

Выращивание органов



Искусственное выращивание органов может спасти миллионы человеческих жизней. Регулярно поступающие новости из сферы регенеративной медицины звучат обнадеживающе и многообещающе. Кажется, что уже не за горами тот день, когда биоинженерные ткани и органы будут так же доступны, как запчасти к автомобилям

УСПЕХИ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Методы терапии с использованием клеточных технологий уже многие годы успешно применяют во врачебной практике. Созданы и успешно используются искусственные органы и ткани, полученные с помощью методов клеточной терапии и тканевой инженерии. К практическим достижениям в области регенеративной биомедицины относится выращивание хрящевых тканей, мочевого пузыря, уретры, сердечных клапанов, трахеи, роговицы и кожи. Удалось вырастить искусственный зуб, пока только в организме крысы, но стоматологам стоит задуматься о кардинально новых подходах. Была разработана технология восстановления гортани после операции по ее удалению и уже выполнено много таких операций. Известны случаи успешной имплантации трахеи, выращенной на донорской матрице из клеток пациента. В течение многих лет осуществляют трансплантацию искусственной роговицы. Самыми простыми для выращивания оказались хрящевая ткань и кожа. В деле выращивания костей и хрящей на матрицах достигнут большой прогресс. Следующий уровень по сложности занимают кровеносные сосуды. На третьем уровне оказались мочевой пузырь и матка. Но эта ступень уже пройдена в 2000–2005 гг., после успешного завершения ряда операций по трансплантации искусственного мочевого пузыря и уретры. Тканевые имплантаты вагины, выращенные в лаборатории из мышечных и эпителиальных клеток пациенток, не только успешно прижились, сформировав нервы и сосуды, но и нормально функционируют уже около

10 лет. Самыми сложными органами для биомедицины остаются сердце и почки, которые имеют сложную иннервацию и систему кровеносных сосудов. До выращивания целой искусственной печени еще далеко, однако фрагменты ткани печени человека уже получены с помощью метода выращивания на матрице из биоразлагаемых полимеров. И хотя успехи очевидны, замена таких жизненно важных органов, как сердце или печень, их выращенными аналогами — все-таки дело будущего, хотя, возможно, и не очень далекого.

МАТРИЦЫ ДЛЯ ОРГАНОВ

Нетканые губчатые матрицы для органов делают из биоразрушаемых полимеров молочной и гликолевой кислот, полилактина и многих других веществ. Большие перспективы и у гелеобразных матриц, в которые, кроме питательных веществ, можно вводить факторы роста и другие индукторы дифференцировки клеток в виде



трехмерной мозаики, соответствующей структуре будущего органа. А когда этот орган сформируется, гель бесследно рассасывается. Для создания каркаса также используют полидиметилсилоксан, который можно заселить клетками любой ткани. Следующий шаг — это выстилание внутренней поверхности полимера незрелыми клетками, которые затем образуют стенки кровеносных сосудов. Далее другие клетки желаемой ткани по мере размножения будут замещать биоразлагаемую матрицу. Перспективным считается использование донорского каркаса, определяющего форму и структуру органа. В экспериментах сердце крысы помещали в специальный раствор, с помощью которого удаляли клетки мышечной сердечной ткани, оставив другие ткани нетронутыми. Очищенный каркас засеивали новыми клетками сердечной мышцы и помещали в среду, имитирующую условия в организме. Всего через четыре дня клетки размножились настолько, что начались сокращения новой ткани, а через восемь дней реконструированное сердце уже могло качать кровь. С помощью этого же метода на донорском каркасе была выращена новая печень, которую затем пересадили в организм крысы.

БАЗОВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Пожалуй, нет ни одной биологической ткани, к попыткам синтеза которой не приступила бы современная наука. Базовая технология выращивания органов, или тканевая инженерия, заключается в использовании эмбриональных стволовых клеток для получения специализирован-

ных тканей. Эти клетки затем помещают внутрь структуры соединительной межклеточной ткани, состоящей преимущественно из белка коллагена. Матрицу из коллагена можно получить путем очистки от клеток донорской биологической ткани или создать ее искусственным путем из биоразрушаемых полимеров либо специальной керамики, если речь идет о костях. В матрицу помимо клеток вводят питательные вещества и факторы роста, после чего клетки формируют целый орган или его фрагмент. В биореакторе удалось вырастить мышечную ткань с готовой кровеносной системой. Эмбриональные стволовые клетки человека индуцировали к дифференцировке в миоциты, фибробласты и клетки эндотелия. Прорастая вдоль микротрубочек матрицы, эндотелиальные клетки сформировали русла капилляров, вошли в контакт с фибробластами и заставили их переродиться в гладкомышечную ткань. Фибробласты выделили фактор роста сосудистого эндотелия, который способствовал дальнейшему развитию кровеносных сосудов. При пересадке мышам и крысам такие мышцы приживались намного лучше, чем участки ткани, состоящие из одних мышечных волокон.

ОРГАНОИДЫ

Используя трехмерные клеточные культуры, удалось создать простую, но вполне функциональную печень человека. В совместной культуре эндотелиальных и мезенхимальных клеток при достижении определенного соотношения начинается их самоорганизация и образуются трехмерные шарообразные структуры, представляющие собой зачаток печени. Через 48 ч после трансплантации этих фрагментов в организм мышей устанавливаются связи с кровеносными сосудами и внедренные части способны выполнять характерные для печени функции. Проведены успешные эксперименты по имплантации крысе легкого, выращенного на очищенной от клеток донорской матрице. Воздействуя на сигнальные пути индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, удалось получить органоиды легких человека, состоящие из эпителиальных и мезенхимальных компартментов со структурными особенностями, характерными для легочных тканей. Биоинженерные зародыши подчелюстных слюнных желез, сконструированные *in vitro*, после трансплантации способны развиваться в зрелую железу путем формирования гроздьевидных отростков с мышечным эпителием и иннервацией. Разработаны 3D-органоиды глазного яблока и сетчатки глаза с фоторецепторными клетками: палочками

и колбочками. Из недифференцированных эмбриональных клеток лягушки вырастили глазное яблоко и вживили его в глазную полость головастика. Через неделю после операции симптомы отторжения отсутствовали, и анализ показал, что новый глаз полностью интегрировался в нервную систему и способен передавать нервные импульсы. А в 2000 г. опубликованы данные о создании глазных яблок, выращенных из недифференцированных эмбриональных клеток. Выращивание нервной ткани наиболее сложно из-за многообразия типов составляющих ее клеток и их сложной пространственной организации. Однако на сегодня существует успешный опыт выращивания аденогипофиза мыши из скопления стволовых клеток. Создана трехмерная культура органоидов клеток головного мозга, полученных из плюрипотентных стволовых клеток.

НАПЕЧАТАННЫЕ ОРГАНЫ

Уже налажено серийное производство биопринеров, которые слой за слоем печатают живые ткани и органы заданной трехмерной формы. Принтер способен с высокой скоростью наносить живые клетки на любую подходящую подложку, в качестве которой используют термообратимый гель. При температуре ниже 20 °C он представляет собой жидкость, а при нагреве выше 32 °C затвердевает. Причем печать осуществляется «из материала заказчика», то есть из растворов живых клеточных культур, выращенных из клеток пациента. Клетки, напыляемые принтером, через некоторое время сами срастаются. Тончайшие слои геля придают конструкции прочность, а затем гель можно легко удалить с помощью воды. Однако чтобы таким способом можно было сформировать функционирующий орган, содержащий клетки нескольких типов, необходимо преодолеть ряд сложностей. Механизм контроля, за счет которого делящиеся клетки формируют правильные структуры, еще не понятен до конца. Однако представляется, что несмотря на сложность этих задач, они все же решаемы и у нас есть все основания верить в стремительное развитие медицины нового типа.

БИОБЕЗОПАСНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК

От регенеративной медицины ждут очень многого и вместе с тем развитие этого направления порождает множество морально-этических, медицинских и нормативно-правовых вопросов. Очень важной проблемой является биобезопасность применения плюрипотентных стволовых клеток. Уже научились программировать клетки крови и кожи



Уже налажено серийное производство биопринеров, которые слой за слоем печатают живые ткани и органы заданной трехмерной формы

с помощью факторов транскрипции в индуцированные стволовые плюрипотентные клетки. Полученные культуры стволовых клеток пациента в дальнейшем могут развиваться в нейроны, ткани кожных покровов, клетки крови и печени. Следует помнить, что во взрослом здоровом организме плюрипотентных клеток нет, но они могут спонтанно возникать при саркоме и тератокарциноме. Соответственно, если ввести в организм плюрипотентные клетки или клетки с индуцированной плюрипотентностью, то они могут спровоцировать развитие злокачественных опухолей. Поэтому необходима полная уверенность в том, что в трансплантируемом пациенту биоматериале таких клеток не содержится. Сейчас разрабатываются технологии, позволяющие прямо получить клетки тканей определенного типа, минуя состояние плюрипотентности.

В XXI в. с развитием новых технологий медицина обязана перейти на качественно новый уровень, который позволит своевременно «отремонтировать» организм, пораженный тяжелой болезнью или возрастными изменениями. Хочется верить, что совсем скоро выращивать органы прямо в операционной из клеток пациента будет так же просто, как цветы в оранжереях. Надежду подкрепляет то, что технологии выращивания тканей уже работают в медицине и спасают жизни людей.

Татьяна Кривомаз, д-р. техн. наук