

## Regenerativna medicina – drugačiji pogled

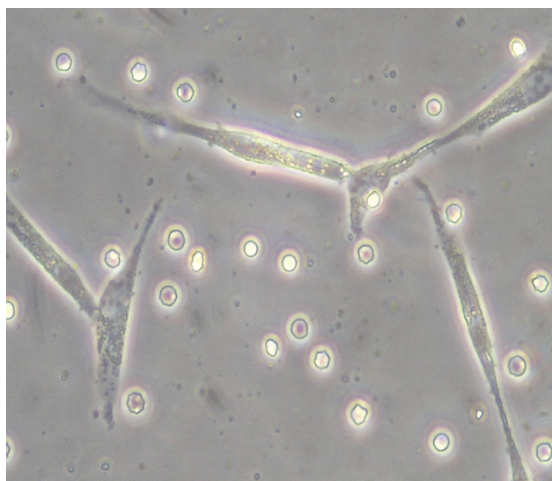


Janko Mrkovački DVM, direktor Stem Art d.o.o.

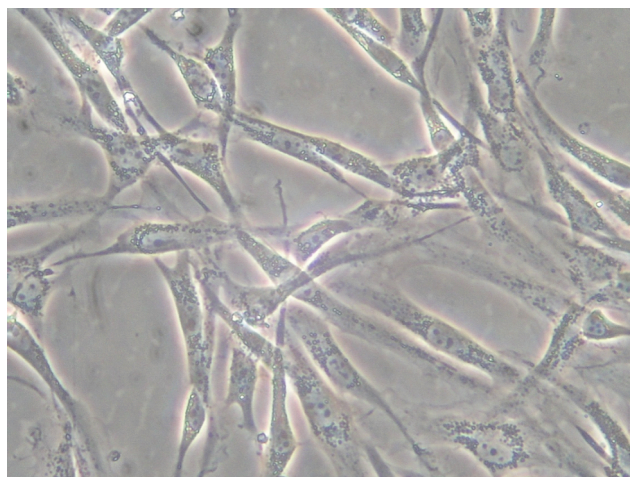
Danas se matične ćelije kao i drugi vidovi regenerativne medicine (PRP, IRAP), na svetskom tržištu tretiraju kao i bilo koji novi lek neke farmaceutske kompanije – planira se razvoj tržišta u periodima od 5-7 godina, procenjuje se povećanje obima potražnje, kao i mogući trendovi daljeg razvoja. Nauka bi htela da te ćelije još malo zadrži u epruvetama, ali u Vrlom Novom Svetu to ne ide tako... Sve što može doneti zaradu naći će se na tržištu. O celishodnosti proizvoda raspravljaće se kasnije. U tom smislu tržište regenerativne medicine se ne razlikuje od tržišta lekova. Do 2018 godine ovo tržište će na globalnom nivou vredeti 117,8 milijardi dolara (Frost & Sullivan). Razlika je u nauci: dok nauka stoji u službi pronalaženja i proizvodnje novih lekova (kao i njihove prodaje), za to vreme jedan veliki deo nauke potpuno negira postojanje tržišta regenerativne medicine, kao i opravdanost njenog postojanja. Šta je razlog za takvu hipokriziju? Pominju se mnogi razlozi, u prvom redu etički – koji se odnose na 'neispunjena obećanja' odnosno na izostajanje terapijskog efekta (ili bar onolikog koliki je bio promovisan); odnosi se i na neželjene efekte ovakve terapije koje, kako kažu, mogu izazvati nesagledive posledice, recimo emboliju pluća, ili moždana krvarenja!? Čudno je kako na tržištu lekova, etika dođe na kraju: kada se objave studije o štetnosti leka, odvoji se par milijardi zarađenog novca, da bi se platili sudski troškovi i naknade oštećenima. Zašto se ovo dešava? Lično verujem da je razlog taj što su matične ćelije, i regenerativna medicina uopšte, imovina svih nas (i pravo da koristimo tu imovinu kada nam zatreba, makar i u estetske svrhe), dok su lekovi isključivo vlasništvo farmaceutskih kompanija, pa ko dirne u njih... Nema veze što svake godine od neželjenih i toksičnih efekata lekova umre onoliko ljudi

kao u jednom većem ratu, a slično važi i za životinje. A onda, koji je procenat neželjenih dejstava matičnih ćelija na organizam u odnosu na lekove? Brojke su zanemarljive. Da li je to statistički prihvatljivo? Jeste. Kritičari upotrebe matičnih ćelija u terapijske svrhe uvek govore o tzv. lečenju neizlečivih bolesti, sa namerom da diskredituju ovu metodu. Ni jedan ne govori o unapređanju stanja kod hroničnih bolesti, smanjenju patnji ili povećanju kvaliteta života pacijenta. Ili o jeftinijem načinu lečenja kojim se postiže isti efekat kao sa lekovima ili hiruškim intervencijama. Ili o najmanje invazivnom metodu lečenja koji daje rezultate.

## MSC izolovane iz masnog tkiva psa



48h i



7 dana nakon izolacije

Snimljeno invertnim fazno-kontrastnim mikroskopom u Institutu za molekularnu genetiku i genetički inženjering, u saradnji sa Stem Art d.o.o.

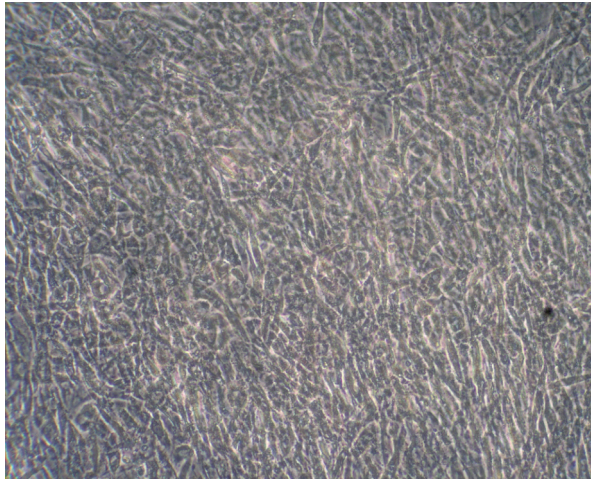
U biltenu udruženja veterinara male prakse br. 14 od oktobra 2014. godine, objavljen je članak Prof. Dr vet. Sci. Milice Kovačević Filipović koji postavlja pitanje da li je sve što se danas govori u međunarodnoj ali i našoj stručnoj i laičkoj javnosti o matičnim ćelijama, zapravo mit. Ili kako ona kaže panaceja (lek za sve). Moja malenkost je zainteresovana strana u tom smislu, kako sa naučnog tako i poslovnog aspekta, te zato i pišem ovaj tekst, jer valja čuti i drugu stranu. U ovom

tekstu ću pokušati da odgonetnem mit o mitu, a biće dostupan i ceo tekst profesorke na linku:

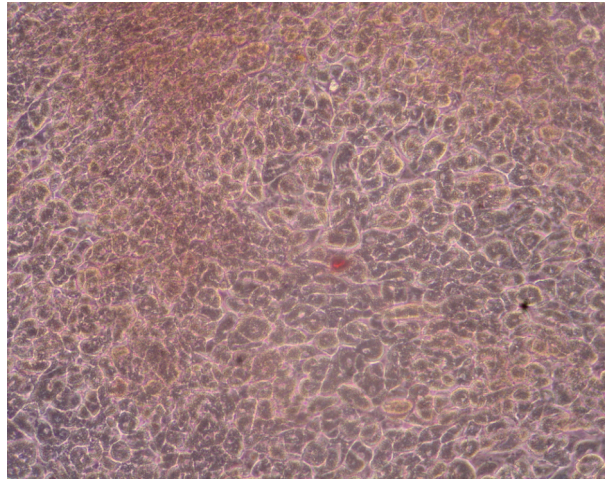
<http://www.stem-art.com/Library/Miscellaneous/Razotkrivanje%20mita%20-%20maticne%20celije%20-%20panaceja%20ili%20ne.pdf>

Oni koji govore da je sve to najpre krenulo u Americi, mislim da nisu dobro informisani. Naime, Amerika je zemlja sa najvećim restrikcijama kada je u pitanju korišćenje matičnih ćelija, i uopšte regenerativne medicine. Do pre par meseci, FDA je u terapijske svrhe dozvoljavala korišćenje matičnih ćelija samo ako njihovo izdvajanje iz tkiva pacijenta nije prelazilo granicu 'minimalne manipulacije' (gde praktično spada i terapija trombocitima - PRP, kao i IRAP terapija). To znači da matične ćelije mogu biti izdvojene iz masnog tkiva ili koštane srži samo korišćenjem centrifuge. Upotreba kolagenaze, što je jedan od prvih koraka u izdvajanju matičnih ćelija iz uzorka masnog potkožnog tkiva, prelazi prag 'minimalne manipulacije'. O njihovom gajenju i razmnožavanju u ćelijskoj kulturi, nema ni govora. To je praktično značilo da pacijenti koji ne mogu biti lečeni mailm brojem matičnih ćelija, koji se može dobiti fizičkim izdvajanjem iz tkiva, odnosno dozvoljenom metodom, postaju medicinski turisti, i odlaze u zemlje gde ne postoji ovakva restrikcija, na klinike koje su u značajnom broju finansirali sami amerikanci. Od pre par meseci restrikcije su mnogo veće. Zašto? Verujem, iz razloga što su korišćenjem dozvoljenih terapijskih metoda svi bili na gubitku osim pacijenata i praktičara, koji su ih lečili. Dakle, posle više godina uspešne primene gore pomenutih terapija, sada svaki praktičar i svaka klinika u Americi, mora registrovati terapijsku metodu (za PRP i IRAP), sa neophodnim kliničkim studijama, naučnim dokazima o efikasnosti metode... Toliko o slobodnoj Americi. Ili je ona zaista slobodna, samo je za neke slobodnija – administraciju, farmaceutsku industriju...

## Diferencijacija MSC masnog tkiva u osteoblaste



Kontrolne, nediferencirane MSC



MSC diferencirane u osteoblaste

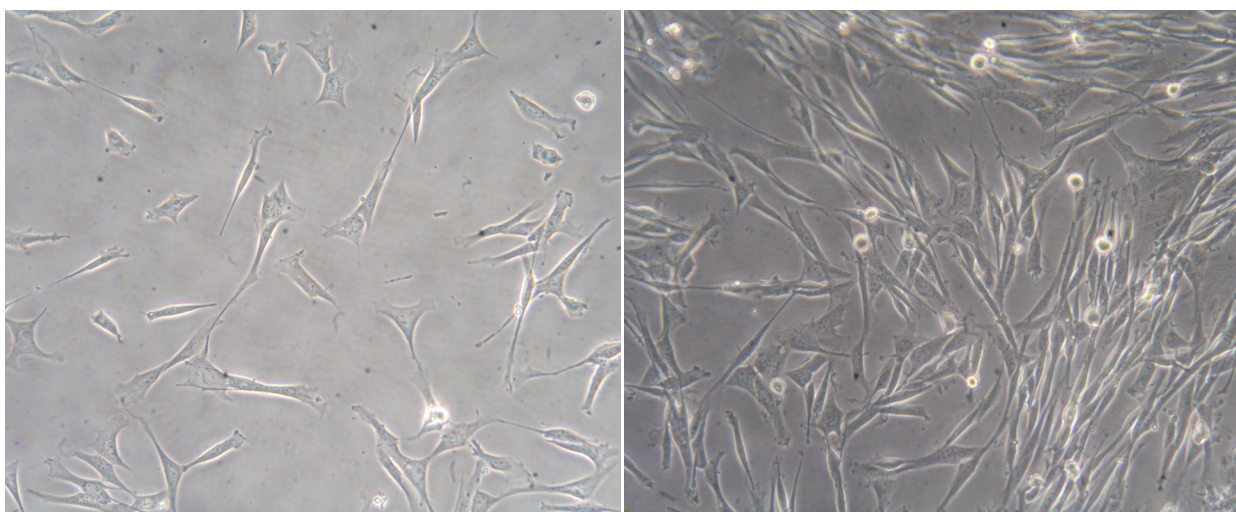
Ćelije su bojene reagensom specifičnim za ekstracelulame depozite kalcijuma, snimljeno invertnim fazno kontrastnim mikroskopom u Instiutu za molekularnu genetiku i gentički inžinjeriing u saradnji sa Stem Art d.o.o.

Kada su u pitanju bolesti kao što su osteoartritis (OA), dijabetes, hronična bubrežna insuficijencija (CRF)..., i pitanje da li matične ćelije mogu da ih leče, odgovor je – mogu. Žao mi je što je to promaklo našoj nauci, ali i delu svetske nauke. Stvari jednostavno tako stoje, a obzirom da ovo nije naučni rad, već kritički osvrt, na kraju teksta neće biti date reference za njega, već vas upućujem na biblioteku koja se nalazi na adresi [www.stem-art.com](http://www.stem-art.com), gde ima oko 4 gigabajta naučnih radova iz oblasti regenerativne medicine, i raznih aspekata koje ona pokriva.

Semantika u regenerativnoj medicini mislim da nije toliko značajna. Verujem da najveći broj korisnika matičnih ćelija, ali i praktičara zapravo ne zna šta znači reč mezenhimalan. Pa u čemu je onda poenta korišćenja te reči u marketinške svrhe, kako kaže profesorka Milica, i da li zapravo ona ima marketinški potencijal? Nema. Mislim da ta reč samo okvirno treba da označi poreklo tih ćelija (gde one 'spadaju'). Inače ta reč se sve manje upotrebljava, a sve više tačnije odrednice:

matične ćelije iz lipoaspirata (ADSC – adipose derived stem cells), ili matične ćelije iz koštane srži (BMSC – bone marrow stem cells, hematopoetične ili mezenhimalnog porekla), ili matične ćelije iz dentalne pulpe (DPSC – dental pulp stem cells). Pojam 'mezenhimalne' je odavno izgubio na važnosti.

### MSC nakon odmrzavanja (izolovane iz masnog tkiva, gajene u kulturi, zamrznute u tečnom azotu)



Snimljeno invertnim fazno-kontrastnim mikroskopom u Institutu za molekularnu genetiku i genetički inženjering u saradnji sa Stem Art d.o.o.

Ali najvažnije pitanje od svih pitanja u veterinarskoj medicini je da li imamo znanje i tehničke mogućnosti da dijagnostikujemo bolesti koju želimo da lečimo. Kakav god da je odgovor, glave butnih kosti pasa se i dalje seku (kao jedno od rešenja), koriste se naširoko lekovi, nekada i do kraja života pacijenta. E sad, ako se ponudi manje invazivan metod, manje toksičan, bez sporednih efekata, onda se mi pitamo da li baš sve znamo o toj bolesti. Čini mi se da kada smo preporučivali klijentima lekove tek pristigle iz inostranstva, za te bolesti, nismo se to pitali, već smo im govorili ono što piše u brošurama ili ono što su nam prezentovali *njihovi* predavači na kongresima, seminarima, predavanjima... Da li su tada iznošene nezavisne naučne studije o efikasnosti i sigurnosti tih metoda, lekova...? I sve to

krajnji korisnik ne zna. Zato je malo licemerno govoriti o tome kako se matične ćelije primenjuju bez prethodnog znanja praktičara o poreklu bolesti, ili mehanizmu dejstva samih ćelija kod bolesne jedinke. Mislim da danas u veterini ili humanoj medicini postoji veliki broj bolesti čije poreklo nije do kraja jasno objašnjeno. Pa ipak proizvode se toliki lekovi koji bi trebalo da leče te bolesti, ili njihove simptome. Postoje samo osnovane pretpostavke u vezi porekla bolesti i rezultati kliničkih ispitivanja koja su finansirale farmaceutske kompanije, što je ulaznica za masovnu proizvodnju lekova i njihovu potrošnju. Kako to naučnici opravdavaju? Naučnici takođe govore o potrebi principijelno jedinstvenog protokola terapijske primene matičnih ćelija. Nisam siguran da je moguće postići jedinstven protokol, kada ima toliko terapeutskih indikacija. A zašto ih ne bi i bilo? Svaki organ, svako tkivo poseduje sopstvene matične ćelije koje fiziološki zamenjuju propale ćelije. Neke bolesti se mogu posmatrati i kao disbalans propadanja ćelija nekog tkiva i njihove zamene. Ako ne znamo pravu prirodu tog disbalansa, zar treba da propustimo priliku da pomognemo životinjama ili ljudima i da taj proces okrenemo u našu korist, dodajući obolelom tkivu dodatne matične ćelije? Naravno, u praksi su stvari malo složenije, ali ne mnogo. Komplikuju ih ljudi...

Zato je hirurgija tu u prednosti – ona životinju iz lošeg stanja prevodi u manje loše stanje, ali uglavnom ne leči. Kada se to uradi matičnim ćelijama, onda to ne valja, jer moramo znati unapred, do zadnjeg molekula, šta se dešava i koliko su bezbedne... Pitam se kada je dosta priče o bezbednosti, ako na PubMed-u postoji preko 2000 objavljenih radova o bezbednosti primene matičnih ćelija dobijenih iz adipoznog tkiva, ili koštane srži, kod životinja i ljudi.



Pre terapije



Šest meseci posle terapije

Osteolitične promene na radijusu i ulni kod psa pre i posle terapije matičnim ćelijama

rađeno u PVA „Tomić“

U ovom trenutku u svetu se menja pogled na terapijski potencijal matičnih ćelija. I ako se prvobitno smatralo da je glavna uloga matičnih ćelija u mogućnosti njihove diferencijacije i zamene ćelija tkiva koje je obolelo i propada, sada se javljaju novi pogledi. Naime, posle mnogih eksperimenata i istraživanja, naučnici su primetili jednu zanimljivu pojavu: u zavisnosti od ambijetalnih uslova *in vitro*, ali i *in vivo*, matične ćelije su sposobne da vrše sekreciju (parakrino) određenih bioaktivnih molekula i ekstracelularnih vezikula, koji baš u tim i takvim patofiziološkim uslovima deluju isceljujuće na organ ili organizam (plašim se da reč 'isceljujuće' ne bude pogrešno shvaćena od strane naučne javnosti). Pomenuti molekuli imaju dejstvo u neposrednoj okolini, ali i u udaljenim destinacijama organizma. Ti molekuli i ekstradularne vezikule poseduju antiinflamatorno,

imunomodulirajuće, antitumorsko i regenerativno svojstvo. Ambijetalni faktori koji izazivaju sekreciju ovih molekula su.

1. Hipoksija – dolazi do povećanja produkcije faktora rasta i antiinflamatornih molekula.

2. Proinflamatorni stimuli – izazivaju sekreciju imunomodulirajućih i antiinflamatornih molekula.

3. 3D gajenje ćelija koje dovodi do sekrecije antikancerskih i antiinflamatornih molekula (u poređenju sa jednoslojnom ćelijskom kulturom).

Kada govorimo o ekstraclularnim vezikulama, koje mogu biti veličine od 50-100  $\mu\text{m}$ , koje nastaju pupljenjem membrane matične ćelije, možda je najjednostavnije reći da one deluju regenerativno, posebno kada je u pitanju angiogeneza, ali i supresija alveolarne infamacije kod plućnih bolesti. Na kraju, one mogu isporučiti, na taj način, inkapsulirane mitohondrije ćelijama čiji je aerobni metabolizam oštećen.

Lučenje egzosoma – nanopartikula, veličine 40-100 nm, neobično je važno u intercelularnoj komunikaciji, posebno kada je u pitanju neurotransmisija, modulacija imunološkog sistema, kod infektivnih bolesti, kao i fibroze nekih organa (jetra).

I sad, nakon ove kratke retrospektive novih pogleda na terapijski potencijal matičnih ćelija, ja se i dalje pitam da li mi *moramo* biti sigurni, u način njihovog dejstva, ili ih možemo primeniti i sada kada su u pitanju, na primer, artropatije kod pasa, ali i mnoge druge bolesti kod životinja i ljudi. U ovom svetlu gledano, zašto bi izjava nekih veterinaru da ne znaju na koji način tačno matične ćelije leče bila skandalozna, te se ne može ničim opravdati.

Veliki broj istraživanja koja se sprovode nagoveštavaju da će matične ćelije 'pomagati' i kod onih oboljenja za koja se prvobitno smatralo da su neizlečiva. To dokazuju i prvi rezultati kliničkih ispitivanja koja se rade širom sveta, a nekako najviše u Japanu, pa onda u Americi, Evropi, Izraelu, Australiji...



Svi naučni radovi, kao i klinička ispitivanja imaju svoje manjkavosti. Da nije tako, za svaki prodor nauci bio bi dovoljan samo jedan rad, jedno istraživanje. Rad koji je navela profesorka Milica, kao primer kako treba koncipirati neko istraživanje, ima po mom mišljenju manjkavost: gubi iz vida subjektivitet – svaka životinja, ali i čovek, pamte bolnost koju su imali, tako da se dešava da lečene jedinke i dalje 'štede', manje ili više, ranije povređenu nogu, zbog sećanja na bol koji je proizvodio određeni pokret. To je dokazano i kod sportskih konja – potpuno izlečene životinje su isto pokazivale vrlo blage znake hromosti pre i posle blokade lidokainom korespondentnog senzitivnog nerva (ili zgloba).

Zaključak koji profesorka Milica navodi u tekstu je zapravo spisak želja koji tržište ne priznaje - nameru da se matične ćelije što duže zadrže u Petri šoljama. Navode se očekivanja kako bi stvari trebalo da se razvijaju, a tako se ne razvijaju u svetu ni kada je lečenje ljudi u pitanju. Na kraju, šta reći... Lečenje životinja i ljudi matičnim ćelijama, lečenje čak i najtežih bolesti (autizam, Parkinson, cerebralna paraliza, traumatske povrede kičmene moždine...) u svetu, nastaviće se sa nama ili bez nas. Moramo sami odlučiti da li ćemo ući u taj brzi voz ili ne. Mnogi ne žele da uđu, kao recimo uredništvo pomenutog biltena, i rukovodstvo SASAP-a. Na moje pismo o nameri da u njihovom biltenu objavim članak (pod bilo kojim uslovima) o pogledu na regenerativnu medicinu iz drugog ugla, kolege su pokazale zavidan nivo arogancije ne udostojivši me odgovora. Ako se ipak nađemo u tom vozu, tada možemo do mile volje raspravljati o bezbednosti, lečenju neizlečivih bolesti, načinu dejstva...