

REGENERATIIVINEN LÄÄKETIEDE

Henri Rönkkö

Tutkielma

Lääketieteen koulutusohjelma

Itä-Suomen yliopisto

Terveystieteiden tiedekunta

Lääketieteen laitos

Maaliskuu 2018

ITÄ-SUOMEN YLIOPISTO, Terveystieteiden tiedekunta
Lääketieteen laitos
Lääketieteen koulutusohjelma
RÖNKKÖ, HENRI J. T. : Regeneratiivinen lääketiede
Tutkielma, 47 sivua
Ohjaajat: dosentti Virpi Tiitu, dosentti Anitta Mahonen

Maaliskuu 2018

Avainsanat: kantasolut, kasvutekijät, ksenotransplantaatio, kudosteknologia, regeneratiivinen lääketiede

Regeneratiivinen lääketiede tähtää biologisten järjestelmien manipulointiin niin, että saadaan korjattua ihmiskehon osia tai tuotettua niitä uudelleen. Siihen kuuluu monenlaisia tutkimuskenttiä. Tässä kirjallisuuskatsauksessa pyritään hahmottamaan, mitä regeneratiivisessa lääketieteessä pystytään tekemään nykyään, ja millaisia tavoitteita, haasteita ja mahdollisuuksia sillä on.

Regeneratiiviseen lääketieteeseen liittyviä tutkimusprojekteja ovat mm. solujen tuottaminen ja niiden kasvuun, asemoitumiseen ja erilaistumiseen vaikuttaminen, soluväliaineen merkitys ja manipulointi, bioprinttaus, desellularisoidujen rakenteiden käyttö ja ksenotransplantaatio.

Käytettävä biologinen materiaali voi olla peräisin yksilöstä itsestään (autologista), toisesta ihmisestä (allogeenista) tai toisesta lajista (ksenogeenista). Myös keinotekoisia materiaaleja käytetään. Kaiken materiaalin tulee olla immunologisesti riittävän yhteensopivaa vastaanottajan kanssa.

Bioprinttaamalla asetellaan soluja, soluväliainetta ja muuta materiaalia kolmiulotteisiksi rakenteiksi, jotka jäävät kuitenkin nykyään melko yksinkertaisiksi. Desellularisoinnissa allo- tai ksenogeenisestä siirteestä poistetaan solut. Siirteeseen kasvaa takaisin vastaanottajan soluja vastaanottajan elimistössä tai bioreaktorissa. Ksenotransplantaatiotutkimuksessa eläimistä pyritään muokkaamaan parempia siirteiden lähteitä ihmisille.

Ääreishermoston regeneraatiota autetaan ääreishermosiirteillä sekä valmistetuilla rakenteilla. Keskushermostoon liittyviä regeneratiivisen lääketieteen sovellutuksia ei ole vielä vakiintuneessa kliinisessä käytössä. Sikiöperäisistä siirteistä on saatu hyötyä parkinsonismissa ja Huntingtonin taudissa, mutta eettinen kiistanalaisuus ja käytännön tekijät ovat rajoittaneet niiden käyttöä. Viljellyillä alkio- ja sikiöperäisillä hermostokantasoluilla on tehty alustavia tutkimuksia. Napaveren yksitumaisista kantasoluista on ollut hyötyä joissain sovellutuksissa. Selkäydinvaurioiden korjautumista ovat eläinmalleissa jonkin verran edesauttaneet ainakin hermosäikeitä korjaava polyetyleeniglykoli-polymeeri, Fibroblast Growth Factor 1 -kasvutekijä ja ääreishermosiirteet. Toiminnan täydellisestä palautumisesta ollaan kuitenkin vielä kaukana.

UNIVERSITY OF EASTERN FINLAND, Faculty of Health Sciences

School of Medicine

Medicine

RÖNKKÖ, HENRI J. T. : Regenerative medicine

Thesis, 47 pages

Tutors: Virpi Tiitu, Docent, Anitta Mahonen, Docent

March 2018

Keywords: growth factors, regenerative medicine, stem cells, tissue engineering, xenotransplantation

Regenerative medicine aims at manipulating biological systems so that human body parts can be repaired or remade. It encompasses many fields of research. This literature review attempts to build a picture of what regenerative medicine is capable of today and what kinds of goals, challenges and opportunities it has.

Research projects related to regenerative medicine include producing cells and affecting their growth, organization and differentiation, the significance and manipulation of the extracellular matrix, bioprinting, the use of decellularized structures and xenotransplantation.

The used biological material can originate from the treated individual (autologous), another person (allogenic) or another species (xenogenic). Artificial materials can also be used. All material must be sufficiently immunocompatible with the recipient.

In bioprinting, cells, extracellular matrix and other material is arranged into three-dimensional structures, which however remain fairly simple today. In decellularization, cells are removed from an allogeneic or xenogeneic transplant. Recipient's cells grow into the transplant in the recipient's body or in a bioreactor. In xenotransplantation research, an attempt is made to modify animals into better transplant donors for humans.

Regeneration in the peripheral nervous system is aided by peripheral nerve transplants and manufactured conduits. For the central nervous system, there is not yet established clinical use of regenerative medicine. Fetal tissue transplants have been efficacious in parkinsonisms and Huntington's disease, but ethical controversy and practical issues have limited their use. Preliminary studies have been made with cultured neural stem cells derived from embryonic and fetal tissue. Mononuclear umbilical cord blood cells have been beneficial in some experimental therapies. In animal studies, recovery from spinal cord injuries has improved with the application of at least polyethylene glycol (a polymer that repairs nerve fibers), Fibroblast Growth Factor 1 and peripheral nerve transplants. Still, functional recovery remains far from complete.

Sisältö

| | |
|---|----|
| 1. Johdanto..... | 1 |
| 2. Perusteita | 2 |
| 2.1. Eläinten ja ihmisen luontainen regeneraatio..... | 2 |
| 2.2. Kasvutekijät..... | 5 |
| 2.3. Soluväliaine | 6 |
| 2.4. Solut..... | 8 |
| 2.5. Soluja sisältävien siirteiden immunologiset kysymykset | 12 |
| 2.6. Solujen biologisen iän merkitys | 15 |
| 2.7. Geneettinen muokkaus | 18 |
| 3. Soveltavia tutkimuksia | 20 |
| 3.1. Kudosten ja elinten keinotekoinen tuottaminen | 20 |
| 3.1.1. Elimen kasvatus istutetusta silmusta | 21 |
| 3.1.2. Elävien siirteiden tuottaminen eläimissä | 21 |
| 3.1.3. Soluttomat eli desellularisoidut siirteet | 22 |
| 3.1.4. Desellularisoidun siirteiden resellularisointi ennen istutusta | 23 |
| 3.1.5. Keinotekoinen soluväliaine | 24 |
| 3.1.6. 3D-bioprinttaus | 25 |
| 3.2. Hermostollinen regeneraatio..... | 26 |
| 3.2.1 Regeneraatio ihmisen ääreishermostossa | 27 |
| 3.2.1 Regeneraatio ihmisen keskushermostossa..... | 29 |
| 4. Pohdinta..... | 32 |
| 5. Lähteet | 37 |

1. Johdanto

Sana ”regeneraatio” tarkoittaa yleisellä tasolla uudelleen tuottamista tai menetetyin takaisin saamista. Termillä voidaan viitata luonnossa esiintyvään biologiseen prosessiin, jonka kautta eliö voi kasvattaa uudelleen menettämänsä osan. Regeneratiivinen lääketiede kehittää keinotekoisia prosesseja, joiden avulla on tarkoitus saada korvattua puuttuva tai virheellisesti toimiva kudokseksi tai elin uudella biologisella rakenteella. Vaikka joitain käytössä olevia sovellutuksiakin on, on selvää, että kyseessä on tulevaisuuteen suuntaava ala.

Tämän kuvailevan tutkielman tarkoitus on tarkastella erilaisia lähestymistapoja, joita regeneratiivisen lääketieteen tutkimuskentällä on, ja kartoittaa sen nykyistä tilaa. Tutkielma painottuu eloperäisiin materiaaleihin ja eikä juurikaan käsittele kokonaan synteettisiä implantteja. Jotkin teknologisesti etäisemmät mahdollisuudet, kuten molekulaariset nanokoneet, on myös rajattu pois (Drexler 2006, Smalley 2001). Vaikka tutkielman osa-alueita onkin välillä käsitelty suomenkielisissä julkaisuissa (esim. Miettinen 2017), suomeksi ei näyttäisi aiemmin ilmestyneen vastaavanlaista katsausta. Englannin kielellä joitain laajalaisia, hakuteosmaisempia esityksiä regeneratiivisesta lääketieteestä on (esim. Bernstein 2011, Fisher ym. 2013), mutta aiheita voi silti valita ja käsitellä monin tavoin. Laajempien teoksien osat ovat usein eri kirjoittajien laatimia ja tarkoitettu suhteellisen itsenäisiksi kokonaisuuksiksi. Syventävien tutkielman lyhyys asettaa rajansa osa-alueiden käsittelylle. Pyrkimyksenä on ollut rakentaa kokonaiskuvaa, arvioida osa-alueiden merkityksiä toisilleen ja hahmottaa niiden välisiä yhteyksiä.

Ensiksi tarkastellaan eläimillä ja ihmisillä luontaisesti esiintyvää regeneraatiota. Näiden vertaileva tutkimus voi jossain vaiheessa johtaa lääketieteellisiin sovelluksiin. Tämän jälkeen käsitellään regeneratiivisen lääketieteen aihepiirejä ja niiden taustatietoja, perusteista soveltavampiin tutkimuksiin edeten.

2. Perusteita

2.1. Eläinten ja ihmisen luontainen regeneraatio

Ihminen pystyy sikiövaiheessa korjaamaan vaurioitaan paremmin kuin sen jälkeen, ja nuorilla yksilöilläkin se onnistuu jonkin verran paremmin kuin aikuisilla. Lisäksi on paljon eläimiä, jotka pystyvät korjaamaan kärsimiään fyysisiä vaurioita kaikissa yksilönkehityksen vaiheissaan paremmin kuin ihminen. Selkärankaisissa on lajeja, jotka voivat uusaa esim. raajoja, pään osia, aistinelimiä sekä keskushermoston ja sisäelinten osia. Voidaan kysyä, voisiko vastaavanlaisia regeneraatiomekanismeja saada toimimaan ihmisessä esim. solujen ympäristöön vaikuttamalla tai somaattisella geenimuuntelulla (Gemberling ym. 2013).

Eläinkunnassa kuulumme Bilateria-ryhmään, jonka ulkoryhmien edustajat, kuten sien-, polttiais- ja sammaleläimet ja kampamaneetit, ovat suurimmaksi osaksi tehokkaita regeneroijia (Bely 2010). Näistä ryhmistä kaikissa on lajeja, jotka pystyvät uusimaan minkä tahansa elimistön rakenteen, kun taas regeneraatioon kykenemättömiä lajeja kuuluu kyseisiin ryhmiin vain vähän. Niinpä on todennäköistä, että Bilateria-ryhmän kantamuodot olivat hyviä regeneroimaan. Bilateria-ryhmän sisällä regeneraatiokyky puolestaan vaihtelee paljon. Esim. sukkulamadoilla ja karhukaisilla solut eivät täysikasvuisilla uusiudu lainkaan (Williamson 2015).

Bilaterian sisällä ryhmitymme mm. selkärankaisiin, joista kaikilla elimistön solujen tilalle tulee jatkuvasti uusia ainakin osassa kudoksista. Ihon ja suoliston epiteelit ovat esimerkkejä kudoksista, joista soluja irtoaa nopeaa tahtia uusien tullessa samalla tilalle alapuolelta. Maksa on selkärankaisilla yleisesti hyvin regeneroitumiskykyinen, ja taustalla olevat molekyylibiologiset mekanismit konservoituneita (Forbes ja Rosenthal 2014). (Konservoitunut tarkoittaa, että ominaisuus esiintyy ryhmän eliölajien keskuudessa hyvin samanlaisena eikä evoluutio ole siten muuttanut sitä paljon sen jälkeen, kun ominaisuus esiintyi yhteisessä kantamuodossa.) Kudonvaurioihin liittyy vahvasti paikallinen immuunijärjestelmän aktivoituminen, jolla on havaittu olevan merkitystä myös regeneraation kannalta. Yksi esimerkki tästä on, että vaurion akuutin vaiheen jälkeen makrofagit muuttavat fenotyyppiään tulehduksellisesta korjaavaan ja alkavat signalointinsa kautta edistää uuden kudoksen kasvua. Monissa asioissa regeneroitumiskyky kuitenkin vaihtelee taksonomisen aseman mu-

kaan. Selkärankaisten parissa heikoimmillakin regeneroijilla on kuitenkin yleensä yksilönkehityksen varhaisissa vaiheissa kyky monipuoliseen regenerointiin.

Menetettyjä ruumiinosia tehokkaimmin korvaavat selkärankaisten löytyvät sammakkoeläinten luokkaan kuuluvasta pyrstösammakoiden lahkosta eli Urodelasta (Alvarado ja Tsonis 2006). Pohjois-Amerikassa esiintyvä punatäplävesilisko (*Notophthalmus viridescens*) voi täysikasvuisena kasvattaa uudestaan mm. raajan, pyrstön, mykiön, verkkokalvon, leuat, etuaivon ja osia sydäimestä. Punatäplävesilisko pystyy myös korjaamaan katkenneen selkäytimen. Regeneraatio tapahtuu blasteeman kautta. Blasteemat koostuvat erilaistumattomista soluista, ja niitä esiintyy kaikilla selkärankaisilla alkionkehityksen aikana, jolloin ne tuottavat anatomisia rakenteita. Täysikasvuisella pyrstösammakolla blasteema syntyy ainakin osaksi dedifferentiaation kautta (Brookes ja Kumar 2002). Blasteema alkaa tuottaa menetettyä rakennetta uudelleen samaan tapaan kuin rakenteet tuotetaan alkioaikana. Pyrstötömät sammakot (Anura) ovat huomattavasti pyrstösammakoita heikompia regeneroijia, etenkin muodonvaihdoksen jälkeen.

Kalat ovat regeneraatiokyvyssään pyrstösammakoista seuraavat selkärankaisten. Luukalat näyttäisivät olevan parempia regeneroijia kuin rustokalat, joiden regeneraatiokykyä on tosin tutkittu vähemmän. Rustokalat eivät pysty regeneroimaan eviään (Goss 2014), joskin ainakin haikalojen tiedetään pystyvän kasvattamaan uusia nefroneita, mitä nisäkkäät eivät vaikuta tekevän (Hermann ym. 2005). Luukaloista laajasti koe-eläimenä käytössä oleva seeprakala (*Danio rerio*) pystyy uusimaan osia evistä, pyrstöstä, sydäimestä, maksasta, selkäytimestä, sisäkorvasta ja kylkiviivaelimestä. Pyrstösammakoiden tapaan regeneraatio nojaa blasteemaan, jonka muodostumisessa lähiympäristöstä vaeltavilla mesenkymaalisilla soluilla on ehkä suurempi merkitys kuin pyrstösammakoiden tapauksessa (Poleo ym. 2001).

Kalojen jälkeen regeneraatiokykyisimmät selkärankaisten lienevät matelijat. Tunnetuin esimerkki näiden regeneraatiosta on monien liskojen kyky uusida pyrstönsä tai sen osa. Usein pyrstönuusimiskyky esiintyy yhdessä kyvyn kanssa pudottaa pyrstö, mitä kutsutaan autotomiaksi. Autotomia lisää liskon mahdollisuuksia päästä pakoon saalistajalta, jonka huomio helposti kiinnittyy irronneeseen, itseksensä liikkuvaan pyrstöön. Tilalle kasvavassa pyrstössä on kuitenkin nikamien sijaan rustoputki, sen lihaksisto ja hermosto ovat yksinkertaisemmat eikä pyrstön katkaisuun tarvittavia rakenteita enää ole (Hutchins ym. 2014). Uusi pyrstö tapaa poiketa muodoltaan alkuperäisestä ja saattaa joskus haarautua. Karolii-

nananoliskon regeneroituvan pyrstön geeni-ilmentymistä on tutkittu. Blasteemaa ei muodostu, vaan pyrstöntynkä alkaa kasvaa pituutta joka kohdastaan siinä valmiiksi olleiden kantasolujen tuottaessa uusia soluja hajautetusti.

On myös liskolajeja, joiden ihosta irtoaa helposti palasia tartuttaessa. Esimerkiksi käy *Ailuronyx seychellensis* –gekkko (Bauer ym. 1989). Sen ihon vetolujuus on heikompi kuin liskoilla yleensä ja verinahassa on mekaanisesti heikko vyöhyke. Verinahan syvempi kerros puolestaan on tiukasti kiinni kehossa. Kiinni jäädessään lisko vääntelee voimakkaasti, jolloin orvaskesi ja verinahan ulompi kerros irtoavat vaihtelevan kokoiselta alueelta, ja lisko pääsee saalistajan otteesta. Tyypillisesti lisko saa uusittua ihon näin syntyneeseen haavaan parissa kuukaudessa. Uusi orvaskesi kasvaa haavan reunoilta samalla, kun jäljelle jäänyt verinahan kerros tarjoaa jonkinasteista immuunipuolustusta. Arpikudosta ei muodostu, mutta uudessa ihossa ei enää ole irtoamista edesauttavaa vyöhykettä verinahassa.

Nisäkkäitä ja lintuja pidetään regeneraatiokyvyiltään heikoimpina selkärankaisina (Bely 2010). Yksilönkehityksen vaihe vaikuttaa kykyyn jonkin verran. Ensimmäisen viikon sisällä syntymästä hiiren sydän pystyy regeneroitumaan täysin infarktin tai kudospoiston jälkeen (Forbes ja Rosenthal 2014). Yli kolmenkymmenen vuoden ajan on tiedetty, että ihmisen keskivaiheen sikiöillä paranevat ainakin pienet viiltohaavat ilman arpeutumista (Leung ym. 2012). Pikkulapsillakin sormien ja varpaiden päät saattavat regeneroitua.

Kananpoikien on todettu pystyvän uusimaan sisäkorvan karvasoluja, minkä ei tiedetä nisäkkäistä ainakaan ihmisiltä onnistuvan (Alvarado ja Tsonis 2006). Joidenkin lintulajien hippokampuksen hermosolujen vaihtuvuus on todettu suureksi (esim. Sherry ja Hoshooley 2010). Nisäkkäidenkin aivoissa myös hermosoluja vaihtuu uudempiin ajan kanssa parilla rajatulla alueella (mistä lisää osiossa 3.2.1). Kiintoisasti nisäkkäiden joukosta löytyy myös poikkeuksia yleiseen linjaan (Seifert ym. 2012). Edellä käsitellyn gekkolajin tapaan tietyt okahiirilajit (ainakin *Acomys kempfi* ja *Acomys percivali*) uhraavat nahkaansa päästäkseen paremmin irti saalistajan otteesta. Kyseisillä okahiirilajeilla on löysä ja helposti repeävä iho. Haavan parantaminen käy okahiirilästä nopeammin kuin liskoilta, eikä okahiiriläkään synny tässä yhteydessä arpikudosta. Uuteen ihoon muodostuvat kaikki normaalin ihon rakenteet, kuten karvasipulit, toisin kuin monilla muilla tutkituilla nisäkkäslajeilla.

MRL-laboratoriohiirikannan on raportoitu aikuisiälläkin mm. kasvattavan uutta sydänlihasta alkuperäisen vaurioituttua arpeutumisen jäädessä minimaaliseksi (Heber-Katz ym. 2004). Kykyä on selitetty ainakin poikkeavalla metalloproteinaasien toiminnalla. Vastaavia tuloksia on saatu transgeenisillä hiirillä, joiden sydänlihas ilmentää mIGF-1:tä (Santini ym. 2007).

Eläinlajien välisten regeneraatiokyvyn erojen takaiset molekyylibiologiset tekijät eivät vielä ole selviä, kuten ei myöskään se, kuinka helppoa tätä tietoa olisi soveltaa lääketieteessä. Eläinten tarkastelu kuitenkin osoittaa, että tehokkaat regeneratiiviset mekanismit pystyvät toimimaan ihmistä muistuttavissa biologisissa järjestelmissä. Soveltamisen onnistuessa hyödyt olisivat suuria.

2.2. Kasvutekijät

Kasvutekijät ovat elimistössä luontaisesti yksilönkehityksen eri vaiheissa paikallisesti esiintyviä proteiineja, joista kukin lisää tiettyjen solutyypin lisääntymistä ja/tai vähemmän erikoistuneiden solutyypin erikoistumista joksikin solutyypiksi. Kasvutekijä voi myös vaikuttaa mm. solujen vaellukseen ja niiden keskinäiseen järjestäytymiseen. Viimeksi mainituissa vaikutuksen perustana on *kemotaksis*, solun kasvaminen tai siirtyminen jonkin suuntaan kasvutekijöiden tai muiden kemiallisten ärsykkeiden ohjaamana.

Kasvutekijöiden paikallinen lisääminen on herättänyt kiinnostusta regeneraationtehostamiskeinona. Vakiintuneimmat sovellukset näyttäisivät löytyvän hematologian alalta, mutta kehittyä on monenlaisia muitakin. Ensimmäinen eristetty kasvutekijä oli Epidermal Growth Factor (EGF), joka edesauttaa haavojen paranemista (Hardwicke ym. 2008, Berglana-Acosta ym. 2009). EGF stimuloi keratinosyyttien ja fibroblastien jakautumista ja liikkumista sekä verisuonten muodostumista. EGF-terapian mahdollisesta syöpää aiheuttavuudesta on väitelty, ja tämä on jonkin verran rajoittanut sen käyttöä. Kliinisiä kokeita on tehty myös mm. Bone Morphogenetic Proteineilla (BMP) ja Vascular Endothelial Growth Factoreilla (VEGF). BMP:llä on tehty kliinisiä kokeita suulakihalkioihin liittyen, ja sillä on hoidettu myös mm. erilaisia kallon luupuutoksia (Chenard ym. 2012). BMP:n käytössä yhtenä ongelmana on suurien pitoisuuksien aiheuttama tulehdusreaktio. Tätä voi olla mahdollista lieventää sitomalla BMP valmistukseen, josta se vapautuu vähitellen. VEGF:ien

avulla on pyritty kasvattamaan uutta verisuonitusta sepelvaltimoiden ja ääreisvaltimoiden tautien hoitamiseksi, joissain tutkimuksissa geeninsiirtoa hyödyntäen (Stewart ym. 2009).

2.3. Soluväliaine

Solu liittyy soluväliaineeseen kalvonsa integriini-proteiinien välityksellä (Lehninger ym. 2005; kuvat 1 ja 2). Solukalvon lävistävät integriinit liittyvät solun sisäpuolella solunsisäiseen tukirankaan, minkä ansiosta solujen tukirangat muodostavat soluväliaineen kanssa yhtenäisen mekaanisen rakenteen. Integriinit liittyvät tiettyihin soluväliaineen proteiineihin, etenkin fibronectiiniin, laminiiniin ja kollageeniin, joiden suhteelliset ja absoluuttiset määrät vaihtelevat kudoksittain.

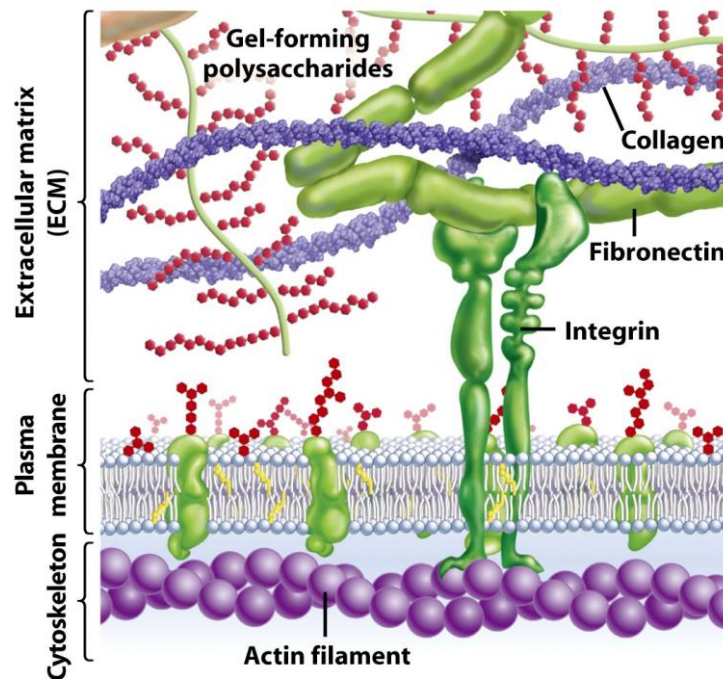
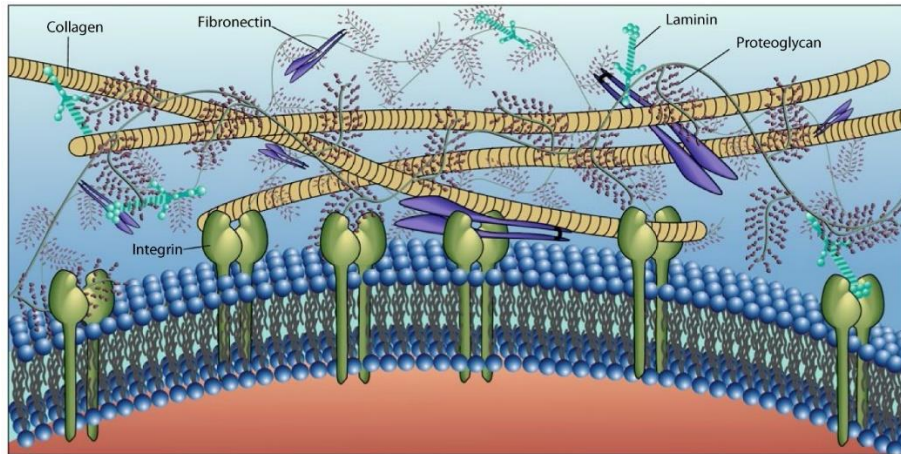


Figure 8-4 Biological Science, 2/e

© 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.

Kuva 1. Solun tukirangan, solukalvon ja soluväliaineen keskinäinen suhtautuminen (lähteestä Freeman 2005). © 2005 Prentice Hall, Inc.



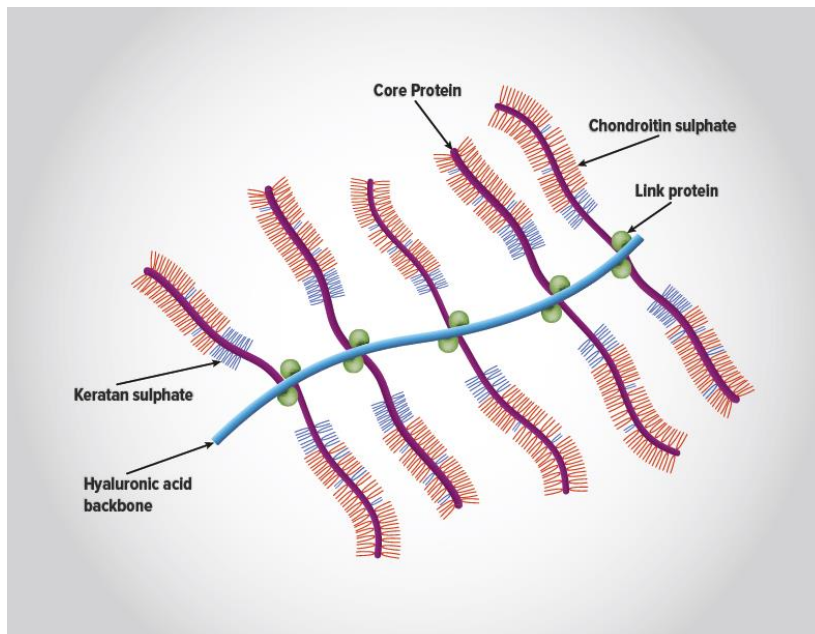
Kuva 2. Toinen kaavio samasta aiheesta (lähteestä Karp 2010). © 2010 John Wiley & Sons, Inc.

Fibronektiinien ja laminiinien tiedetään olevan osaksi sidoksissa kollageeniin. Kollageeniin liittyy hyaluronaattimolekyylejä, joihin puolestaan liittyy proteoglykaaneja, proteiinisiäiteitä, joista lähtee harjasmaisesti glykosaminoglykaaneja (kuva 3). Eri kudosten proteoglykaaneilla on erilaisia glykosaminoglykaaneja. Glykosaminoglykaaneja esiintyy solunulkoisessa tilassa myös proteoglykaaneihin liittymättömänä. Soluväliaineessa on myös muita tärkeiksi tiedettyjä komponentteja, kuten elastomeerina toimiva elastiini-proteiini. Sitä on eniten niiden anatomisten rakenteiden sidekudoksessa, jotka kykenevät runsaaseen elastiseen venymiseen. Soluväliaineessa on myös lukuisia makromolekyylejä, joiden merkitys lienee huomattavasti tunnettu.

Glykosaminoglykaanien tiedetään sitovan kasvutekijöitä, ja eri kudostyyppien erilaiset glykosaminoglykaanit erilaisine sulfatoitumisineen muodostavat perustan sille, että eri kudosten soluväliaineisiin sitoutuu erilaisia kasvutekijöitä (Lehninger ym. 2012, Janis 2012). Glykosamiinoglykaanien ansiosta soluväliaine voi varastoida kasvutekijöitä pitkän aikaa; niitä ajatellaan vapautuvan soluväliaineen uudelleenmuokkauksen yhteydessä (esim. Tang ym. 2009).

Veressä on fibrinogeeniä, joka verisuonen vaurioituessa muuttuu paikallisesti fibriniiniksi. Fibrini polymerisoituu verkostoksi soluvälitilaan ja verisuoniin (Clark 2001, Rajangam ja An 2013). Yhdessä erinäisten muiden asioiden kanssa tämä auttaa tyrehtyttämään verenvuotoa. Valmis fibriniverkosto on väliaikaista soluväliainetta, jossa solut pystyvät vaelta-

maan. Fibriini myös sitoo kasvutekijöitä. Paranemisprosessin edetessä solut hajottavat fibriiniverkoston lopullisen kudoksen tieltä.



Kuva 3. Proteoglykaaneja hyaluronaattiin kiinnittyneinä. Jäljennetty themedical-biochemistrypage, LLC:n luvalla (<http://themedicalbiochemistrypage.org/>).

Olemassa olevan tutkimuksen pohjalta arvellaan, että kasvutekijäterapia toimii parhaiten, kun paikalla on myös sopivanlaista soluväliainetta. Kasvutekijöiden sitomisen lisäksi soluväliaine toimii kehikkona, joka edesauttaa uusien solujen järjestäytymistä kudokseksi. Soluväliaine on evolutiivisesti konservoitunutta, ja sitä on siirretty lajien välillä ilman immunologisia ongelmia (Song ja Ott 2011).

2.4. Solut

Soluväliaineen lisäksi kudokset koostuvat soluista. Regeneratiivisen lääketieteen piiriin kuuluu paljon tutkimusta, jossa korjattavaan kohteeseen siirretään soluja ilman soluväliainetta tai soluväliaineen kanssa. Siirretyt solut voivat asettua kohdekudoksen toiminnalliseksi osiksi ja/tai elvyttää olemassa olevaa kudosta.

Erilaistumattomia soluja, jotka pystyvät erilaistumaan useammaksi kuin yhdeksi solutyypiksi, nimitetään kantasoluiksi. Kantasolut voidaan jakaa toti-, pluri- ja multipotentteihin.

Totipotentteja soluja ovat ihmisen tapauksessa tsygootit, jotka syntyvät munasolun ja siittiön yhdistyessä. Solunjakautumisten tuloksena tsygootista kehittyy blastokystivaiheen alkio. Blastokysti koostuu sisäsolumassasta eli embryoblastista ja trofoblastista. Sisäsolumassan solut ovat pluripotentteja, ja ne muodostavat elimistön. Trofoblastista puolestaan tulee istukan sikiönpuoleinen osa. Myöhemmissä yksilönkehityksen vaiheissa elimistöstä löytyy multipotentteja kantasoluja, joiden erilaistumisspektri on rajallisempi. Samoin esiintyy erilaistumattomia soluja, jotka pystyvät kuitenkin erikoistumaan vain yhdeksi solutyypiksi; näitä soluja kutsutaan unipotentteiksi. Esim. luurankolihaksen satelliittisolut voivat erilaistua luontaisissa olosuhteissa vain lihassoluiksi. Multi- ja unipotentit solut auttavat kudoksia uusiutumaan ja korjaantumaan.

Ensimmäiseksi toimivaksi soluterapiaksi voitaneen nähdä luuytimen hematopoeettisten kantasolujen siirto (Leavitt teoksessa Bernstein 2011). Nämä solut ovat multipotentteja ja tuottavat veren solut. Luuydinsiirtoja on tehty ihmisillä 1950-luvun lopulta alkaen, ja 1970-luvun lopulla tekniikka kudostyyppityksineen saatiin toimimaan riittävän hyvin tullakseen laajaan käyttöön. 1980-luvun lopulla syntyneessä menetelmän muunnelmassa hematopoeettiset kantasolut eristetään luovuttajan verestä, jossa niiden määrää on ensin lisätty sytokiinin avulla (yleisesti Granulocyte Colony-stimulating Factor eli G-CSF).

Ihmisen fetaalisoluja saadaan abortoiduista sikiöistä, ja niillä on usein enemmän kapasiteettia kudoksen korjaamiseen kuin myöhempien yksilönkehityksen vaiheiden soluilla. Niiden käyttäminen on kuitenkin eettisesti kiistanalaista. 1980-luvun lopulta alkaen on tehty kliinisiä kokeita Parkinsonin taudin hoitamisesta fetaalisilla keskiaivojen soluilla (Rossi ja Cattaneo 2002, Lindvall ja Björklund 2004). Myös Huntingtonin tautiin ja joihinkin muihin tauteihin liittyen on tehty kokeita (ks. kohta 3.2.1). Kliinisissä kokeissa on saavutettu merkittäviä hyötyjä, mutta eettisen problematiikan ohella lähestymistapaan liittyy myös käytännön ongelmia. Siirteen elinkelpoisuuden ja puhtauden kontrollointi on vaikeaa ja sen säilyvyyskin melko rajallista. Ihmisen fetaalikudoksen käyttö on jäänyt suhteellisen vähäiseksi.

1970-luvulta alkaen on tehty tutkimusta multipotentteihin kantasoluihin kuuluvilla mesenkymaalisilla kantasoluilla, englanniksi Mesenchymal Stromal Cells eli MSC (Viswanathan ja Keating teoksessa Bernstein 2011). Niitä voidaan eristää mm. luurankolihaksesta, rasvakudoksesta, napanuorasta, nivelkalvosta, hammasytimeistä ja lapsivedestä. Me-

senkymaalisten kantasolujen määritelmään kuuluu, että ne voivat standardoiduissa viljelyolosuhteissa erikoistua osteoblasteiksi (luuta muodostavia soluja) sekä rasva- ja rustosoluiksi. Kuitenkin on raportoitu, että ne organismiin siirrettyinä voisivat erilaistua myös hematopoieettisiksi soluiksi sekä eri epiteelien soluiksi, ja blastokystaan siirrettyinä useimmiksi solutyypeiksi (Jiang ym. 2007). Täten niissä on potentiaalia monenlaisiin sovellutuksiin.

Elimistössä MSC:t ovat suhteellisen harvassa, ja kokeellisissa hoidoissa niitä on kasvatettu viljelmissä ja annettu sitten hoidettavalle yksilölle verenkiertoon tai paikallisena injektiona (Wei ym. 2013). MSC:t tyypillisesti hakeutuvat vaurioalueille ja osallistuvat niiden korjaukseen, mutta eivät aina pysyvästi integroidu alueen kudokseen (Joyce ym. 2010). Koska MSC:t myös hillitsevät immuunijärjestelmää paikallisesti, immunologinen kudosityhteyso-pivuus ei välttämättä ole kaikissa sovelluksissa välttämätöntä.

On esitetty erilaisia mekanismeja, joita mesenkymaaliset kantasolut saattavat hyödyntää kudoksen korjaamisessa. Kantasolut voivat erittämiensä kudoshormonien avulla hillitä immuunijärjestelmää, lisätä verisuonten kasvua, vähentää vapaiden radikaalien tuotantoa, estää arpeutumista ja apoptoosia sekä lisätä kudoksessa ennestään olevien kantasolujen säilymistä, lisääntymistä ja erilaistumista (Joyce ym. 2010). Lisäksi mesenkymaalisten kantasolujen, kuten myös fibroblastien, on osoitettu pystyvän luovuttamaan mitokondrioita toisille soluille (Spees ym. 2006).

Mesenkymaalisten kantasolujen käyttöä on tutkittu niin eläinmallein kuin prekliinisin ja kliinisin kokein monissa yhteyksissä. Tutkimuskohteita ovat olleet mm. Crohnin tauti, maksakirroosi, diabetekset, MS-tauti, ALS-tauti, Parkinsonin tauti, aivohalvaus, selkäydinvaurio, sydäninfarkti, kardiomyopatiat, sydämen vajaatoiminta, keuhkohtaumatauti, haavat ja sarveiskalvon ja tukikudosten vauriot sekä luuydinsiirtoon liittyvä käänteishyljintä (käänteishyljinnästä lisää kohdassa 2.5; lähteinä tutkimuskohteista Viswanathan ja Keating teoksessa Bernstein 2011, Wei ym. 2013, Benders ym. 2013). Kliiniseen käyttöön pääsi Kanadassa vuonna 2012 Osiris Therapeutics -yrityksen Prochymal-tuote, jonka 2013 osti Mesoblast-yritys (Waltz 2013). Prochymal koostuu ihmisperäisistä MSC-soluista, ja se hyväksyttiin Kanadassa lasten vaikean käänteishyljinnän hoitoon ehdolla, että lisätutkimuksia tehtäisiin. Prochymalilla on hoidettu kliinisissä kokeissa käänteistorjuntaa, Crohnin tautia ja keuhkohtaumatautia, mutta näyttöä on saatu vain melko vaatimattomasta tehosta.

Muissa kliinisissä kokeissa MSC-terapia on tuottanut joitain hyötyjä, mutta kliinisiä kokeita pidemmälle nämä eivät kuitenkaan ole vielä johtaneet.

Alkiokantasolut tunnistettiin ensi kertaa vuonna 1981 hiiren blastokystista, ja vuodesta 1998 on eristetty ja viljelty ihmisen alkiokantasoluja (Coghlan 2014). Alkiokantasoluja voidaan pitää viljelmässä erilaistumattomassa, pluripotentissa tilassa. Niiden erilaistumista opittiin myös nopeasti ohjailemaan, vaikka tutkimusta ovatkin osaltaan rajoittaneet alkioiden käyttöön liittyvät eettiset kysymykset.

Alkiokantasoluja voidaan tuottaa halutun yksilön soluista *terapeuttisen kloonauksen* avulla, joka hyödyntää SCNT-tekniikkaa (Somatic Cell Nuclear Transfer). Tällöin jonkin yksilön jostain solusta siirretään tuma toisen yksilön munasolun tuman tilalle. Erilaistuneen solun tumaa käyttäen tämä onnistui sammakolla vuonna 1958, lampaalla vuonna 1996 ja apinalla vuonna 1997, alkiosolujen tumien avulla jo aikaisemmin (University of Utah 2015). Ihmisen alkiokantasolujen tuotto SCNT:n kautta raportoitiin vuonna 2013 (Tachibana 2013). Tumansiirron jälkeen kromatiinin epigeneettinen tila joiltain osin ”nollautuu”, ja munasolusta kehittyy alkio, jonka genotyyppi on sama kuin tuman luovuttajan (lukuun ottamatta mitokondrioita, jotka tulevat munasolun mukana). Terapeuttinen kloonaus on yksi mahdollinen tapa tuottaa potilasta varten kudosityhteensopivia pluripotentteja soluja.

Vuonna 2006 tuotettiin ensimmäistä kertaa indusoituja pluripotentteja soluja, englanniksi Induced Pluripotent Stem cells eli IPS cells (Ho ym. teoksessa Bernstein 2011). Ne ovat pluripotentteja soluja, jotka on muokattu keinotekoisesti elimistön jo erilaistuneista somaattisista soluista. IPS-solujen tuotannossa hyödynnetään tiettyjä transkriptiotekijöitä, mikä voidaan saada aikaan ainakin eri geeninsiirtotekniikoilla (mm. genomiin integroiden ja ilman integroitumista) ja pienimolekyylisillä yhdisteillä (Hou ym. 2013). Alkiovaihetta ei tarvita. IPS-solujen tuottaminen on yksinkertaisempaa kuin alkiokantasolujen eikä eettisesti erityisen kiistanalaista.

Pluripotentteista soluista ja joistain muista kantasoluista on mahdollista saada viljelmässä muodostumaan organoideja, eräänlaisia miniatyyrielimiä (Lancaster ja Knoblich 2014). Organoideissa on useita erilaisia solutyyppejä, ja solut ovat organisoituneet keskenään samaan tapaan kuin elimessä. Organoideilla on myös joitain niistä toiminnoista, joita elimellä on. Organoidien avulla voidaan mallintaa tutkimuksissa elinten toimintaa ja muodostu-

mista, ja niistä pyritään myös kehittämään istutteita. Istutetutkimuksista esimerkkejä ovat munuaisorganoidien istuttaminen ja maksanulkoisten sappiteiden korjaaminen hiiressä (Sampaziotis 2017). Munuaisorganoideihin kasvoi istutuksen jälkeen verisuonitus, ja maksanulkoisten kolangiosyyttien kasvatus organoideina on merkittävää, koska näiden solujen viljely muilla menetelmillä on ollut vaikeaa.

2.5. Soluja sisältävien siirteiden immunologiset kysymykset

Siirre voi olla peräisin potilaasta itsestään, jolloin kyseessä on *autologinen* siirre, tai toisesta ihmisyksilöstä, jolloin siirrettä nimitetään *allogeeniseksi*. Mikäli siirre on peräisin toisesta lajista, se on *ksenogeeninen*.

Allo- ja ksenogeenisten siirteiden käyttöön liittyy immunologisia ongelmia, jotka perustuvat solujen ominaisuuksiin. Allogeenisten siirteiden tapauksissa ongelmat rajautuvat MHC I:en (Major Histocompatibility Complex I) ja veriryhmien yhteensopivuuteen. MHC I:t ovat solukalvoilla esiintyviä proteiinikomplekseja. Niiden avulla solut esittelevät tappaja-T-lymfosyyteille peptidejä, jotka ovat peräisin solun sisällä valmiiksi olleista peptideistä tai pilkkoutuneet solun sisällä olleista polypeptideistä. Jos tappaja-T-lymfosyytit tunnistavat peptidejä, jotka poikkeavat elimistön omasta tavanomaisesta koostumuksesta, kyseisiä peptidejä sisältävä solu pyritään tuhoamaan infektion tai maligniteetin leviämisen estämiseksi.

Tällaisen immuunireaktion voi laukaista paitsi MHC I:n yhteydessä oleva vierasperäinen peptidi, myös vierasperäinen MHC I. Jos ihmisestä toiseen siirretään solu, ja kompleksi poikkeaa riittävästi elimistön omista komplekseista, tappaja-T-lymfosyytti pyrkii tuhoamaan solun.

Yksilön omat solut ovat normaalisti yhteensopivia tämän immuunijärjestelmän kanssa. (Poikkeuksia ovat mm. kives ja keskushermosto, joiden kanssa immuunijärjestelmä normaalisti vuorovaikuttaa vain rajallisesti. Jos veri-aivoeste tai kives-verieste vaurioituvat, elimistö voi alkaa tuottaa vasta-aineita niiden suojaamia rakenteita vastaan. Ks. esim. Abbas ym. 2010.) Elinsiirroissa pyritään löytämään luovuttaja, jonka kudosityhteensopivuus

olisi vastaanottajan kanssa mahdollisimman hyvä. Täydellisessä yhteensopivuudessa MHCI-kompleksit ja veriryhmät vastaavat toisiaan.

MHCI-kompleksia koodittaa HLA-geeni (Human Leukocyte Antigen). Yhdessä ihmisen haploidissa kromosomistossa on kolme HLA-geeniä: HLA-A, joita tunnetaan 59 erilaista versiota, HLA-B, joita tunnetaan 118 erilaista, ja HLA-DR, joita tunnetaan 124 erilaista (Schall ja Baker 2015). Diploidissa kromosomistossa on kaksi kappaletta kutakin HLA-geeniä, yksi kummaltakin vanhemmalta.

Nämä lukuisat HLA-alleelit ovat evolutiivisesti konservoituneita, ja niiden on esitetty säilyneen tasapainottavan luonnonvalinnan ansiosta (esim. Ridley 1993). Jonkin alleelin runsastuessa toisten kustannuksella sitä kantavat yksilöt tulevat alttiimmiksi taudinaiheuttajille, joilla on nyt suurempi homogeeninen isäntäjoukko johon sopeutua, jolloin valinta suosii kyseistä alleelia entistä vähemmän.

Identtisillä kaksosilla on luonnollisesti samat HLA-alleelit. Heterotsygoottisten kaksosten tapauksessa taas on 25 %:n todennäköisyys, että kaikki HLA-alleelit ovat samat. Kaukaisempien sukulaisten tapauksessa todennäköisyys on pienempi, ja lisäksi veriryhmätkin vaihtelevat ihmisten välillä. Useinkaan täydellisen yhteensopivaa luovuttajaa ei löydy, jolloin on tyydyttävä riittävän hyvään ja hillittävä siirteen vastaanottajan immuunijärjestelmää tarkoitukseen sopivilla lääkkeillä, *immunosuppressanteilla*. Näiden käyttöön liittyy omat haittansa: elimistön kyky torjua taudinaiheuttajia ja maligniteetteja heikkenee.

Kudosyhteensopivuus on relevantti tekijä regeneratiivisessa lääketieteessä, joskin joissain sen sovellutuksissa, kuten aivojen soluistutteissa, kudossopivuus ei ehkä ole yhtä tärkeää kuin toisissa. Joka tapauksessa kudosityhteensopivuus voitaisiin saada regeneratiivisessa lääketieteessä aikaan erilaisin strategioin. Yksilöllisessä hoidossa käytettäisiin potilaan omia soluja tai niistä terapeuttisella kloonauksella tai IPS-tekniikalla tuotettuja pluripotentteja kantasoluja. Toisena mahdollisuutena voitaisiin perustaa kantasolulinjoja, jotka edustaisivat O-veriryhmää ja joissa HLA:n ilmentyminen olisi estetty (Viswanathan ja Keating teoksessa Bernstein 2011). HLA:n ilmentymättömyys siirtoelimessä saattaisi olla ongelmallista immuunipuolustuksen kannalta, joskin mahdollisesti vähemmän ongelmallista kuin immunosuppressanttien käyttö. Kolmas mahdollisuus ovat kantasolupankit, joissa olisi erilaisia HLA-yhdistelmiä edustavia soluja yhteisön tarpeisiin.

Ongelmaa voidaan lähestyä myös toisesta suunnasta: pyritään tekemään vastaanottajan immuunijärjestelmästä spesifisesti sallivampi siirrettä kohtaan. Tutkimusta on mm. hematopoieettiseen kimerismiin ja säätelijä-T ja –B-soluihin liittyen (Fadi ja Wood 2012). Hematopoieettinen kimerismi saadaan aikaan siirtämällä siirteen luovuttajan luuydintä vastaanottajalle, jolloin vastaanottaja saa kateenkorvaansa luovuttajan dendriittisoluja, jotka saavat aikaan luovuttajan antigeeneihin reagoivien tappaja-T-solujen tuhoutumisen. Ilmeisesti pysyvän tuloksen aikaansaaminen usein vaatii vastaanottajan oman luuytimen tuhoamista ennen siirtoa. Tähän kuitenkin liittyy riskejä, kuten käännteishyljintä (kun vastaanottajan omat dendriittisolut on hävitetty, voivat selviytyä luovuttajan sellaisetkin tappaja-T-solut, jotka ovat reaktiivisia vastaanottajan antigeeneille).

Ksenotransplantaatiota on esitetty yhdeksi ratkaisuksi siirtoelinpulaan (Gianello teoksessa Orlando 2014). Siirtoelinlähdettä on pyritty kehittämään erityisesti kesysiasta, jota on suhteellisen helppoa ja nopeaa kasvattaa, ja jonka elimet vastaavat kooltaan ja fysiologialtaan melko hyvin ihmisen vastaavia. Etenkin perinteisessä ksenotransplantaation lähestymistavassa, jossa ei pyritä tuottamaan kimeerisiä eläimiä (ks. kohta 3.1.2), on immunologisia lisähaasteita allogeeniseen siirtoon nähden. Sian solujen pinnalla on paitsi MHCI-komplekseja, myös erilaisia ihmiselimistölle vieraita molekylaarisia komponentteja, jotka aktivoivat immuunivasteen. Eläintutkimuksissa on pyritty lieventämään näitä ongelmia mm. sian geneettisellä muokkauksella ja tuottamalla siirteet saaville kädellisille toleranssia kateenkorva- tai luuydinsiirroilla. Toimiviin sovellutuksiin näyttäisi kuitenkin olevan vielä melko pitkä matka. Toisaalta genominmuokkaustekniikat ovat kehittyneet viime aikoina paljon (ks. kohta 2.7), mikä voi omalta osalta auttaa lopulta saavuttamaan tavoitteen.

Ksenotransplantaatioon on liittynyt myös huoli taudinaiheuttajien siirtymisestä toisista lajeista ihmiseen. Vaikka eläimet voitaisiin kasvattaa patogeeneista vapaassa ympäristössä, sian endogeeniset retrovirukset ja jotkin huonosti tunnetut virukset saattaisivat edelleen tarttua siirtoelimen kautta, varsinkin, jos potilaan käytössä olisi immunosuppressio. Viimeaikaiset genominmuokkaustyökalut näyttäisivät olevan hyvä työkalu endogeenisten virusten inaktivointiin (Yang ym. 2015).

2.6. Solujen biologisen iän merkitys

Vanhenemista biologisena ilmiönä on käsitelty paljon teoreettisella tasolla, ja mahdollisia interventioita on hahmoteltu (esim. Holliday 1996, de Grey ja Rae 2007, Austad ja Masaro 2010). Regeneratiivisen lääketieteen kannalta voidaan kysyä, miten solujen lähteen ikä vaikuttaa solujen toimintaan sovellutuksissa.

Replikatiivinen seneskenssi on jo melko vanha löydös (Hayflick ja Moorhead 1961). Yleisesti ottaen ihmisen somaattiset solut voivat käydä viljelmässä läpi vain rajallisen määrän jakautumissyklejä. Erilaistuneiden solujen tapauksessa tämä pohjautuu telomeerien lyhenemiseen. Telomeerit ovat aitotumallisten kromosomien päissä sijaitsevia DNA-jaksoja, joita solun jakaantuminen lyhentää. Jos telomeerit tulevat hyvin lyhyiksi, jakautuminen ei enää onnistu. Solussa käynnistyy *DNA damage response* (DDR) ja solusta tulee sen myötä senescentti (Rodier ja Campisi 2011).

Tietyt elimistön solutyypit, mm. jotkin immuunijärjestelmän solut sekä somaattiset kantasolut, samoin kuin alkiokantatasolut, ilmentävät telomeraasia, entsyymiä, joka pidentää telomeereja (Cong ym. 2002). Tämä luultavasti lisää replikatiivista potentiaalia. Telomeraasin rajoitetun ilmentymisen biologiseksi funktioksi on esitetty syövän ehkäisyä; syöpäsoluissa telomeraasi ilmentyykin, ja syövät vaikuttaisivat usein olevan peräisin somaattisista kantasoluista (Günes ja Rudolph 2013).

Seneskenssi tulee kuitenkin viljelmässä vastaan myös somaattisilla kantasoluilla ja immuunijärjestelmän soluilla (Wagner ym. 2008). Hiirten hematopoieettisten kantasolujen telomeerien keinotekoinen pidentäminen telomeraasin yliekspressiolla ei lisännyt niiden replikatiivista potentiaalia, vaikka vastaava käsittely erilaistuneisiin soluihin näin vaikuttaakin (Allsopp ym. 2003).

Luultavasti solut eivät elimistössä useinkaan ehdi saavuttaa replikatiivisen seneskenssin rajaa, koska ne jakautuvat siellä harvemmin kuin viljelmässä (Loeser 2009). Elimistössä on myös täysin jakaantumattomia soluja, kuten sydänlihask- ja hermosoluja, joiden ikääntymismuutokset eivät siten liity jakautumisiin.

DDR:n voi käynnistää lyhentyneiden telomeerien lisäksi myös mm. muu DNA:n vaurioituminen (Rodier ja Campisi 2011). Solu voi myös tulla senescentiksi ilman DDR:ää. Senescentti solu ei jakaannu, ja niistä useimmat ilmentävät p16INK4a-geeniä, jonka tuote hiljentää solunjakautumista edistäviä geenejä. Senescentti solu myös erittää mm. inflammatorisia sytokiineja ja metalloproteinaaseja (Baker ym. 2016). p16INK4a-positiivisten solujen hävittäminen hiiristä geneettistä muokkausta hyödyntäen pidensi hiirten elinikää 20–30 % ja paransi terveyttä monin tavoin.

Mitokondrioilla on selvästi merkitystä biologisen vanhenemisen kannalta. Vanhoilla yksilöillä on enemmän ongelmia mitokondrioiden toiminnassa, ja mitokondrioiden hyvä toiminta on oleellista ihmisen solujen pärjäämisen kannalta. Esim. mitokondrioiden sisäkalvopotentialin toimivuuden on todettu mesenkymaalisilla kantasoluilla ennustavan lisääntymis-, invaasio- ja erilaistumiskykyä (Pietilä ym. 2010). Toisaalta on todettu, että mitokondrioiden poisto senescentistä solusta nuorentaa solun (Correia-Melo ym. 2016).

On esitetty, että mitokondrioiden DNA:n pysyvä vaurioituminen olisi biologista vanhenemisprosessia ajava tekijä; ajatuksen empiirinen pohja ei ole kiistaton (esim. Lane 2005). Joka tapauksessa häiriöt mitokondrion toiminnassa voinevat lisätä hapetusstressiä ja tämä esim. inflammatorisuutta ja senescenttiä. Munasolulinjan ja jossain määrin somaattisten kantasolujenkin mitokondrioiden DNA:n arvellaan suurimmaksi osaksi säästyvän vastaavanlaisilta vaurioilta, koska kyseisten solujen energiantuotanto on pääosin anaerobista (Gull ym. 1999, Rafalski ym. 2012).

Sitä, ovatko mitokondrioiden muutokset syytekijä solun vanhenemisessä, voisi varmaankin testatata vaihtamalla vanhaan soluun mitokondriot nuoremasta. Tämä on mahdollista saada aikaan tumansiirtotekniikalla tai viljelemällä mitokondriollisia soluja sellaisten solujen kanssa, joiden mitokondriot on tuhottu. Mitokondrionsa menettänyt solu voi saada uusia fibroblasteilta tai mesenkymaalisilta kantasoluilta (Spees ym. 2006). Artikkelihauun perusteella ei ole tutkimustulosta siitä, mitä senescentille solulle tapahtuu, jos sen mitokondrioiden tilalle vaihdetaan toiset ei-senescentistä solusta.

Vanhenemiseen liittyy mm. myös vaikeasti hajotettavien aineenvaihduntatuotteiden kertymistä solujen sisään sekä solunulkoisen tilan molekulaarisen arkkitehtuurin kärsimistä (de Grey ym. 2005). Solut voidaan kuitenkin puhdistaa alkuperäisestä solunulkoisesta materi-

aalista, ja jos ne jakautuvat useita kierroksia viljelmässä, solujen sisällä olevat mahdollisesti haitalliset ainekset laimentunevat.

Solujen tumän DNA:n mutaatioilla ja epigeneettisillä muutoksilla on esitetty olevan merkitystä biologisessa vanhenemisessa. Terapeuttisen kloonauksen ja IPS-solujen tuottamisen yhteydessä epigeneettinen tila nollautuu ainakin osin.

Vanhempien yksilöiden somaattiset solut, niin erilaistuneet solut kuin kantasolut, yleisesti ottaen toimivat huonommin (Liu ja Rando 2011, Beerman ym. 2013). Niiden toiminta ei normalisoidu nuorempaan kehoon siirrettäessä.

Joidenkin tutkimusten mukaan vanhojenkin yksilöiden soluista saadaan indusoitua tiettyjen kriteerien mukaan normaalisti toimivia pluripotentteja soluja (Lapasset ym. 2011, Yagi ym. 2012, Sikora 2013). On myös tuloksia, joiden mukaan IPS-solutekniikan teho heikkenisi vanhempien yksilöiden soluja käytettäessä ja saadut solut tulisivat senseskenteiksi aikaisemmin (Rohani ym. 2014). IPS-solutekniikka yleisesti pidentää solujen telomeereja. Mikäli vanhasta ja nuoresta yksilöstä tuotetut IPS-solut ovat samanlaisia, yksilön ikä ei olisi kustomoitujen hoitojen esteenä menetelmää käytettäessä. Samoin tämä viittaisi siihen, että ikääntyminen ei välttämättä merkitsisi sitä, että elimistön kaikkiin soluihin kertyy suuri määrä erilaisia peruuttamattomia muutoksia. Asia ei siis kuitenkaan vielä liene kiistaton.

On pohdittu pitkään, vanhenevatko tumansiirtotekniikalla tuotetut eläimet nopeammin, koska niiden DNA on peräisin sukusoluja biologisesti ikääntyneemmistä soluista. Systemaattista tutkimusta aiheesta on niukasti, mutta tuoreessa tutkimuksessa tumansiirrolla kloonatut lampaat eivät vanhenneet poikkeavasti (Sinclair ym. 2016). Tämän perusteella vastaavanlaiset ongelmat voitaisiin välttää myös terapeuttisen kloonauksen yhteydessä.

2.7. Geneettinen muokkaus

Geneettiselle muokkaukselle voi nähdä regeneratiivisessa lääketieteessä erilaisia mahdollisia käyttöalueita, kuten yksilölliset hoidot, ksenotransplantaation ja uusien mekanismien ohjelmoinnin soluihin.

Rekombinantti-DNA-teknologia on kehittynyt 1970-luvulta alkaen (Watson ym. 1992). Erilaisia menetelmiä on nykyään paljon. Uusi geneettinen materiaali voidaan saada soluun kemiallis-fysikaalisilla tekniikoilla tai viruksilla.

Geneettinen muutos on mahdollista tehdä haluttaessa väliaikaiseksi käyttämällä plasmidi-muotoista siirto-DNA:ta, jonka solu ajan kuluessa hajottaa (Twyman 2005). Tällä tekniikalla voidaan luonnollisesti vain lisätä soluun geneettistä materiaalia, ei poistaa tai muokata olemassaolevaa. Pysyvänkin geneettisen muutoksen ilmentymistä voidaan kontrolloida ulkoisilla tekijöillä, jos siirtokasetti rakennetaan sopivanlaiseksi (Chtarto ym. 2003).

Suhteellisen uutta kehityssuuntausta geneettisessä muokkauksessa edustavat sekvenssispesifisesti DNA-juostetta katkovat nukleaasit. Homologista rekombinaatiota hyödyntäen siirrettävä DNA-sekvenssi saadaan sitten liittymään poistetun DNA-sekvenssin tilalle. Näistä Crispr/Cas9-systeemin käyttö on kasvanut räjähdysmäisesti julkistamisen jälkeen (Jinek ym. 2012, Pennisi 2013, Barrangou 2014).

Crispr/Cas9-systeemi pohjautuu prokaryooteissa luontaisesti esiintyvään mekanismiin, jolla ne muokkaavat genomiaan tullakseen vastustuskykyisemmiksi kohtaamilleen bakteriofageille. Bakteriofagi-infektiosta selviytynyt prokaryootti voi integroida bakteriofagin DNA:ta omaan DNA:hansa CRISPR-toistojaksojen (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) yhteyteen. Prokaryooteilla on myös Cas-proteiineja (CRISPR Associated). Yksi Cas-proteiiniperhe on Cas9. Cas9-proteiinit sitovat itseensä RNA:ta, jota transkriptoituu edellä mainituista integroituneista bakteriofagisekvensseistä.

Jos edellisen kaltainen bakteriofagi infektoi prokaryootin tai sen jälkeläisen, tapahtuu seuraavaa. Cas 9:ään sitoutunut RNA pariutuu komplementaarisesti soluun nyt tulleen kaksisäikeisen bakteriofagi-DNA:n toisen juosteen kanssa. Sitten Cas9 toimii nukleasina ja

katkaisee bakteriofagi-DNA-kaksoisjuosteen tunnistetun alueen irti. Tämä pysäyttää bakteriofagi-infektion.

Systeemin hyödyntämisen geneettisessä muokkauksessa mahdollistaa se, että Cas9:ään on opittu sitomaan haluttu RNA-sekvenssi. Tällöin voidaan poistaa muokattavan solun kohde-DNA:sta vastaava sekvenssi ja liittää homologista rekombinaatiota hyödyntäen tilalle toisenlainen sekvenssi. Systemi toimii tehokkaasti myös ihmisen soluissa, ja genomien muokkaus on sitä käyttäen huomattavasti helpompaa ja täsmällisempää kuin aiemmin.

Geneettisesti voidaan muokata ituradan tai somaattisia soluja. Somaattista genomimuokasta voidaan tehdä sekä suoraan organismissa – *in vivo* – että organismin ulkopuolella organismiin siirrettäviin soluihin – *in vitro*.

Regeneratiivisen lääketieteen eläinmalleissa ituradan geneettinen muokkaus voi helpottaa joidenkin tutkimusten toteuttamista, mutta kliinisellä puolella tähdätään olemassaolevien yksilöiden korjaamiseen, jolloin mahdollinen geneettinen muokkaus on somaattista. *In vitro* –muokkaus puolestaan on yksinkertaisempaa kuin *in vivo*. Geeninsiirtovektorit on helpompi saada soluihin viljelmäoloissa, immuunijärjestelmä ei ole mukana monimutkais-
tamassa asioita, soluja voidaan jälkeinpäin tarkkailla ja valikoida, vektorit on helpompi kohdistaa vain ja ainoastaan tiettyihin soluihin jne. Tällä hetkellä näyttäisi siltä, että suurimpaan osaan regeneratiivisen lääketieteen lähestymistapoja istuisi parhaiten *in vitro* -muokkaus. Tutkimuksissa, kokeissa ja hoidoissa yleinen asetelma on, että kehoon siirretään muualla tuotettuja soluja. *In vivo* –muokkauksetkaan eivät kuitenkaan ole regeneratiivisen lääketieteen kannalta epärelevanttejä, esim. verisuonikasvutekijöiden saamista verenkiertovajauksesta kärsivään kudokseen tällä keinolla on tutkittu melko paljon (Stewart ym. 2009).

3. Soveltavia tutkimuksia

3.1. Kudosten ja elinten keinotekoinen tuottaminen

Elin- ja kudossiirrot ovat kliinisen lääketieteen vakiintuneita menetelmiä. Allogeenisista kudoksista yleisimmin siirretään tällä hetkellä verta, sarveiskalvoja, luuydintä, luuta ja sydänläppiä (Jalanko ja Mäkisalo 2004, Gaum ym. 2012). Elinsiirroista yleisimmät Yhdysvalloissa vuonna 2012 olivat yleisimmästä vähiten yleiseen munuainen, maksa, sydän, keuhko, haima ja suoli (Kellar 2015).

Useimmissa allogeenisissa siirroissa siirteen solut jatkavat elämäänsä uudessa isännässä, ja joissain tapauksissa siirre kasvaa kokoa siirron jälkeen. Luuydinsiirroissa solut hakeutuvat luuydintiloihin ja lisääntyvät ja täyttävät ne. Elävältä luovuttajalta saatu maksan osa kasvattaa siirron jälkeen lisää maksakudosta. Allogeenisessa luusiirroissa sen sijaan kudoksen soluvälimateriaali toimii kehikkona, johon siirtyy vastaanottajasta uusia soluja (Kumpta ym. 2001). Suurimmasta osasta allogeenisia luusiirteitä solumateriaali poistetaan nykyään aktiivisesti (Song ja Ott 2011). Allogeenisten sydänläppien lisäksi siirretään eläimen läppäkudoksesta tai sydänpussista valmistettuja bioproteeseja; toistaiseksi näiden kaikkien kesto vaikuttaa rajalliselta, joskin desellularisoidun läppäsiirteen resellularisoitumisesta on saatu hyviä tuloksia eläinmallissa (Bloomfield 2002, Iop 2014).

Nykyään siirrettävien elinten ja useimpien kudosten lähteenä toimivat ihmiset, usein kuolleet sellaiset, mikä rajoittaa sekä saatavuutta, laatua että kudosityhteensopivuutta. Osin ongelma ratkeaisi, mikäli elimet saataisiin pidettyä kehon ulkopuolella elinkykyisinä pidempään. Siirtoelinten ja -kudosten tuottamiseksi muilla tavoin on esitetty erilaisia visioita. Rakenne voisi kasvaa ”silmusta” osin kehon sisällä. Toisena mahdollisuutena eläin voisi olla mahdollista saada tuottamaan elimiä, jotka olisivat riittävän yhteensopivia ihmiskehon kanssa. Tai solumateriaalista puhdistettuun ihmisen tai eläimen elimen soluväliainekehikkoon voitaisiin istuttaa kasvamaan potilaan soluja. Kehikko voisi olla mahdollista tuottaa myös keinotekoisesti tai muista biologisista rakenteista kuin kiinnostuksen kohteena olevasta elimestä. Kudospinttaus tähtää anatomisen rakenteen rakentamiseen kerros kerrokselta koneen ohjauksessa (Murphy ja Atala 2014).

3.1.1. Elimen kasvattaminen istutetusta silmusta

Esimerkkeinä elimen silmusta kasvattamisesta mainittakoon seuraavat tutkimukset. Takebe ym. (2013) viljelivät ihmisen indusoiduista pluripotentista soluista erilaistettuja maksasoluja, ihmisen mesenkymaalaisia kantasoluja ja ihmisen napalaskimon endoteelisoluja soluviljelmässä, jolloin ne muodostivat kolmiulotteisia maksan aihioita (liver bud). Nämä siirrettiin immuunivajaisiin hiiriin, joissa ne yhdistyivät verenkiertoon. Maksakudos tuotti albumiinia ja trypsinogeeniä sekä antoi ihmisen vierasainemetabolisia kykyjä hiirille, joiden oma maksa oli poistettu.

Bredenkamp ym. (2014) puolestaan tuottivat kateenkorvakudosta hiirelle. Hiiren alkion fibroblastit saatiin muuntumaan kateenkorvan epiteelisoluja vastaaviksi soluiksi indusoidulla Foxn1-ilmentymisellä. Tämä saatiin aikaan aiemmin tuotetun transgeenisen ilmentymiskasetin avulla. Indusoitua pluripotenssia ei siis tarvittu välissä. Soluista käytettiin nimitystä iTEC, induced Thymic Epithelial Cell. Viljelmässä iTEC-solut saivat fetaaliset T-solujen esiasteet erikoistumaan T-soluiksi. iTEC-soluja viljeltiin yhdessä fetaalisten tymosyyttien ja fetaalisen kateenkorvan mesenkyymin kanssa. Solukko siirrettiin sitten täysikasvuisen syngeneisen hiiren munuais kapselin alle. Muiden kuin iTEC-solujen tarkoitus oli sopivan kasvu ympäristön tuottaminen. Siirteet kasvoivat makroskooppisiksi elimiksi. Kontrollilla selvitettiin, että iTEC-solut olivat näiden kehittämisessä välttämättömiä. Elimet tuottivat T-soluja. Tutkimus on yhdenlainen läpimurto muttei ehkä helposti sovellettavissa ihmiseen sellaisenaan, koska siinä hyödynnettiin ituradan geneettistä muokkausta ja fetaalisia kudoksia.

3.1.2. Elävien siirteiden tuottaminen eläimissä

Perinteisessä ksenotransplantaatiossa, jota käsiteltiin kohdassa 2.5, on pyritty saamaan eläimen elimistä yhteensopivia ihmisen kanssa muokkaamalla eläintä geneettisesti ja tutkimalla mahdollisuuksia immunologisen toleranssin lisäämiseksi. Toisenlainen mahdollisuus on tuottaa kimeerinen eläin, jonka siirrettävät elimet muodostuvat ihmisperäisistä soluista (Wu ym. 2017).

Tekemällä Pdx1-geeni toimimattomaksi on saatu aikaan hiiren alkioita, joka eivät pysty tuottamaan haimaa omista soluistaan. Kun tällaiseen alkioon siirrettiin rotan pluripotentteja kantasoluja, haima muodostui, ja siinä oli runsaasti rottaperäisiä soluja. Haima kuitenkin koostui osittain myös hiiren soluista.

Ihmisen indusoitujen pluripotenttien solujen on havaittu pystyvän osallistumaan naudan ja sian blastokystan sekä sian implantaation jälkeisen alkion muodostukseen, joskaan integraatio ei ole yhtä tehokasta kuin hiiri-rottamallissa. Ihmis-eläinhybridejä ei päästetty tutkimuksessa kehittymään tämän pidemmälle.

3.1.3. Soluttomat eli desellularisoidut siirteet

Eristetty kudos voidaan tehdä soluttomaksi eli desellularisoida fysikaalisilla (esim. jäädytys-sulatussyklit), entsyymaattisilla (esim. trypsiini) tai kemiallisilla (pinta-aktiiviset aineet, kuten SDS eli Sodium Dodecyl Sulphate) menetelmillä (Song ja Ott 2011). Istutuksen jälkeen siirteeseen kasvaa vastaanottajan solukkoa soluväliaineen sitomien kasvutekijöiden opastuksella. FDA on hyväksynyt erilaisia allo- ja ksenogeenisiä desellularisoituja valmisteita. Ihmisen verinahasta tuotettua Allodermia käytetään mm. palovammojen hoidossa ja vatsanpeitteiden tyrien korjauksessa. CryoValve on desellularisoitu ihmisen keuhkovaltimoläppä. Suurin osa allogeenisista luusiirteistä desellularisoidaan. (Todettakoon, että resellularisaatio elimistössä ei aina ole täydellistä. Ainakin isoihin luusiirteisiin jää alueita, joihin siirteen saajan osteoblastit eivät tunkeudu, ks. Kumpta 2001.)

Tutkimuksen tasolla on menetelmän soveltaminen mm. nivelrustoon (Benders ym. 2013). Eläimistä kerättyä, kemiallisesti (pinta-aktiivisilla aineilla) desellularisoitua rustoa on muokattu mikropartikkeleiksi ja siirretty toisten eläinten kokeellisesti tuotettuihin rustovaurioihin, joissain kokeissa sellaisenaan ja toisissa mesenkymaalisten kantasolujen kera. Lasiruston kaltaista kudosta on raportoitu näillä menetelmillä syntyneen (Benders ym. 2013).

Vaikka soluväliaineessa on kudokohtaisia eroja, voi yhden kudoksen väliaine joskus soveltua eri kudoksen korjaamiseen. Toisesta lajista otetusta ohutsuolen limakalvonalaisku-

doksesta tehdyn desellularisoidun preparaatin avulla on saatu koiralla osittain uusiutumaan lihas-jänneliitos (Turner ym. 2010). Poistetun luurankoliuksen tilalle syntyi uutta luurankoliasta.

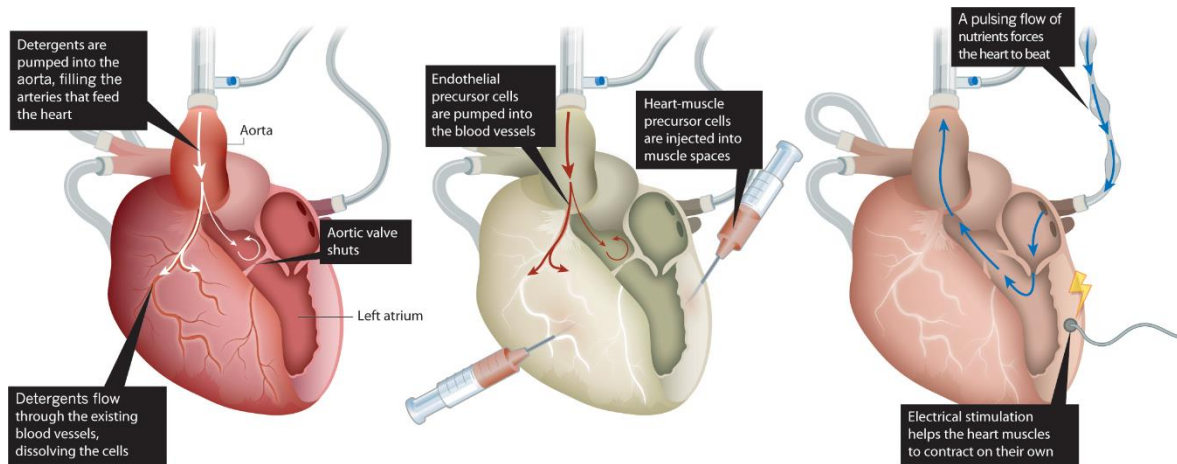
3.1.4. Desellularisoidun siirteen resellularisointi ennen istutusta

Desellularisoituun materiaaliin voidaan myös kasvattaa soluja bioreaktorissa ennen siirtoa. Menettelyä on tutkittu niin kudosis- kuin elintasolla. Elimet desellularisoidaan perfusoidulla niillä pinta-aktiivisilla aineilla verisuonistonsa kautta (Moran ym. 2014, Song ja Ott 2011, Maher 2013). Bioreaktorissa desellularisoitu elin saa tarvittavat solut ja nämä ravinnon sekä kehitystä oikeaan suuntaan ohjaavan kemiallis-fysikaalisen ympäristön. Soluja voidaan syöttää elimen suoniston tai luumenin kautta tai injektoida parenkyymitilaan. Menetelmää on sovellettu mm. maksaan, suoleen, munuaiseen, sydämeen, haimaan ja keuhkoihin. Tuotoksia on siirretty koe-eläimiin, ja ne ovat usein monella tavalla funktionaalisia mutta eivät kuitenkaan vielä pysty korvaamaan elimen toimintaa.

Yksi merkkipaalu oli menetelmän soveltaminen sydämeen (Ott ym. 2008). Desellularisoitu rotan sydän yhdistettiin suonentyngistään putkiin, joiden kautta voitiin syöttää soluviljelyliuosta ja rotan aortan endoteelisoluja (kuva 4). Parenkyymiin injektoidiin neonaattien (hiljattain syntyneiden) rottien sydämistä tehtyä solususpensiota. Liuoksen pulsatiivinen syöttö ja sähköinen stimulaatio elektrodeilla edistivät solujen järjestäytymistä uudeksi sydänlihakseksi. Lopulta sydän sykki spontaanisti. Suorituskyky oli normaaliin sydämeen verrattuna melko vaatimaton ja kärsi syketaajuuden noustessa tietyn tason yli. Ejektiofraktio (osuus verestä, jonka sydän pumppaa supistuessaan ulos) on alkuperäisen tutkimuksen jälkeen saatu mahdollisesti neljäsosaan tavanomaisesta.

Toisena samantapaisena tutkimuksena käsiteltäkseen lyhyesti metodin sovellus keuhkoon (Ott 2010, Song ym. 2011). Tässä tutkimuksessa tuotettu elin myös istutettiin eläimeen. Rotan desellularisoitujen keuhkojen verisuonistoon syötettiin ihmisen napanuorasta eristettyjä endoteelisoluja. Endoteelin muodostuttua syötettiin keuhkoihin hengitysteiden kautta rotan sikiön keuhkoista tehtyä solususpensiota. Vietettyään aikaa bioreaktorissa keuhko siirrettiin anatomiselle paikalleen rottaan, jonka yksi keuhko oli poistettu. Siirre paransi

alkuun happitasapainoa yksikeuhkoisiin verrokkeihin nähden, mutta sitä ei ole saatu pysymään toimintakykyisenä neljätoista vuorokautta pidempään.



Kuva 4. Sydämen desellularisointi-resellularisointiprosessi (lähteestä Maher 2013). Vasemmalla luovutetusta sydäimestä poistetaan solut, jolloin vain soluväliaine jää. Keskellä syötetään uudet solut, jotka oikealla muodostavat uudet solukot mekaanisen ja sähköisen stimuloinnin alaisina. © 2013 Macmillan Publishers Limited.

Perfuusiodesellularisointitutkimuksissa käytettyjen koe-eläinten elimet ovat usein pienempiä kuin ihmisten ja menetelmän soveltamisen ihmisen isompiin elimiin arvellaan tuovan omia haasteitaan. Solujen lähdeäkin osin vielä haetaan. Kokeissa solujen lähteinä käytetään usein eläinten sikiöiden tai nuorien yksilöiden elimiä. Luontainen regeneraatiokyky on näillä parempi kuin vanhemmilla yksilöillä, ja solut valtaavat desellularisoidun elimen paremmin. Ihmiseen tämä lähestymistapa ei liene sovellettavissa, joten ainakin osa solutyypeistä pitäisi tuottaa esim. IPS-soluista viljelemällä.

3.1.5. Keinotekoinen soluväliaine

Soluille voidaan tuottaa kehikkoja paitsi desellularisoimalla elimiä tai kudoksia myös keinotekoisesti erilaisista aineksista. On tutkittu viljeltyjen, ei-selkärankaisperäisten ja syntetttisten aineiden käyttöä soluväliaineen korvikkeina (Dumitriu 2002, Hughes ym. 2010). Niillä voi olla tuotantoprosessiin liittyviä etuja, ja samalla kun niiltä puuttuu ihmisen luontaisen soluväliaineen ominaisuuksia, voivat ne toisaalta myös palvella funktioita, joita luontainen ei.

Hiiren sarkoomasolujen tuottamaa proteiiniseosta myydään Matrigel-tuotteena, jota käytetään paljon kasvualustana soluviljelyssä. Hämähäkinseitin proteiinien tuotantoa rekombinantti-DNA-tekniikalla kehitetään (Schacht ja Thomas 2014). Hämähäkinseitti on bioyhteensopivaa ja –hajoavaa sekä mekaanisilta ominaisuuksiltaan kiinnostavaa. Regeneratiivisen lääketieteen kannalta relevantti löydös on ainakin sen kyky edesauttaa hermojen regeneraatiota (Allmeling ym. 2006). Erilaiset eliöt tuottavat polysakkarideja, joita voidaan myös muokata edelleen. Levistä saadaan alginaatteja ja niveljalkaisista kitiiniä, josta muokataan kitosaania, joka on bioyhteensopivaa ja –hajoavaa. Kasvien osia desellularisoimalla jää kolmiulotteisia selluloosaverkostoja, joihin tunkeutuu elimistössä sidekudossoluja ja verisuonia (Modulevsky ym. 2016). Tällainen selluloosaverkosto joustaa mekaanisen kuormituksen alla mutta ei kuitenkaan elimistöön istutettuna hajoa kemiallisesti, mikä voi lisätä sille perustuvien rakenteiden pysyvyyttä. On myös bioyhteensopivia ja -hajoavia synteettisiä polymeerejä, kuten polylaktidi ja polyglykolidi. Soluväliaineen ja –kalvojen proteiineissa esiintyy RGD-peptidisekvenssejä, joihin solut tarttuvat integriinien välityksellä (Hersel ym. 2003). Synteettisiin polymeereihin voidaan liittää näitä sekvenssejä, jolloin solut pystyvät ankkuroitumaan ja liikkumaan polymeeristössä paremmin.

On olemassa erilaisia fysikaalis-kemiallisia tekniikoita, joiden avulla näistä aineksista koostuvan massan sisäistä rakennetta on ajateltu voitavan mahdollista muokata paremmin kehikkökäyttöön soveltuvaksi. Esimerkiksi hydrogeeleistä voidaan saada huokoisia kylmäkuivausta hyödyntämällä (Annabi ym. 2010). Erilaisia väliaikaisia muotteja voidaan käyttää perustuen esim. siihen, että erilaiset aineet liukenevat toisiin aineisiin eri tavoin (Justin ym. 2016). Elektrosynnäuksella taas voidaan tuottaa aineesta hyvin ohuita lankoja (Cassidy 2014). Monimutkaisten elinten sisäisen rakenteen jäljentäminen tällaisilla tekniikoilla ei ole nykypäivää.

3.1.6. 3D-bioprinttaus

3D-bioprinttaus on tekniikka, jota on kehitetty 1990-luvulta alkaen (Murphy ja Atala 2014). Bioprinttauksen ajatus on rakenteen tuottaminen kerros kerrokselta niin soluja kuin tarvittavaa väliainettakin tulostaen. Ensimmäiset bioprintterit perustuivat mustesuihkumekanis-

miin, kuten edelleen suurin osa käytössä olevista. Lisäksi rinnalle ovat tulleet mikroekstruusio ja laser. Mikroekstruusio on muovien 3D-tulostuksessa yleinen tekniikka, jossa materiaali pursotetaan ulos yhtenäisenä pötkönä. Laseravusteisessa kudostulostuksessa laserin tuottama painepulssi saa tulostettavan aineksen liikkeelle.

Kudostulostuksen haasteita ovat olleet mm. korkealla resoluutiolla tulostaminen tyydyttävällä nopeudella ja verisuonituksen tuottaminen. Suoraan tulostamisen ohella rakenteen tuottamisessa voidaan pyrkiä hyödyntämään solujen itseorganisointumista, jota sopivanlaisen väliaineen käyttö edesauttaa (Greggio ym. 2013). Esimerkiksi verisuonia voisi syntyä pienistä palloista fuusioitumalla, kuten joissain tutkimuksissa on saatu tapahtumaan (Mironov ym. 2009). Yleisesti käytetty mustesuihkumeکانismi sopii erilaisten signaaliainegradienttien tekoon.

Nykyiset tulosteet ovat vielä melko kaukana monimutkaisista, paksuja rakenteita sisältäviä elimistä. Litteät ja putkimaiset rakenteet ovat luultavasti aikaisemmin saavutettavissa olevia sovellutuksia. Tulostamalla on eri tutkimuksissa jäljitelty mm. luu-, sydän, rusto-, maksa, keuhko-, neuraali-, iho- ja vaskulaarikudosta (Gudapati ym. 2016). Eläimiin on istutettu näistä ainakin luu-, iho-, rusto- ja vaskulaarikudosta. Eläinmalleja käyttäen on kehitetty myös tulostamista *in situ* eli suoraan kehoon ainakin luuhun ja ihoon liittyen. Tulostettuja virtsarakkoja on istutettu ihmisiin, mutta mm. verisuonittuminen ja rakon mekaanisten ominaisuuksien jäljentäminen ovat ongelmia, joita ei ole vielä täysin ratkaistu (Osborn ja Kurzrock 2015).

3.2. Hermostollinen regeneraatio

Osa ihmisten kärsimistä vaurioista on hermostollisia. Jos uusia rakenteita aletaan istuttaa aikaisempien tilalle, voi joissain tapauksissa olla tarpeellista yhdistää nämä hermostoon. Luurankolihasisto on normaalisti tahdonalaisen hermoston ja monet elimet autonomisen hermoston kontrollissa. Näiden mietteiden pohjalta omistetaan seuraava erillinen osio hermoston regeneraatiolle.

Eläinkunnassa hermoston regeneraatiokyky näyttää seurailevan yleistä regeneraatiokykyä. Aiemmin käsitelty punatäplävesilisko voi korjata katkenneen näköhermon ja hermottaa kylkeensä istutetun ylimääräisen raajan. Kyseisen eläimen keskushermostokin on hyvin regeneroitumiskykyinen: etuaivo voi kasvaa uudestaan ja selkäytimen katkos korjaantua. Pырstösammakoilla, kuten myös luukaloilla, regeneroituvan aivon solulähteenä toimivat aivokammioita verhoavat radiaalisten gliojen kaltaiset solut (Kirkham ym. 2014). (Nisäkkäillä radiaaliset gliasolut ohjaavat neuronien vaellusta aivoissa varhaisen yksilönkehityksen aikana.)

3.2.1 Regeneraatio ihmisen ääreishermostossa

Neurogeneesiä eli uusien neuroneiden tuotantoa saattaa tapahtua täysikasvuisten nisäkkäiden ääreishermostossa, mahdollisesti ihmiselläkin (Czaja ym. 2012). Ilmiötä puoltavia tutkimuksia näyttäisi olevan suhteellisen niukasti. Hermosäikeiden uusiutuminen ihmisen ääreishermostossa on sen sijaan hyvin tunnettu ilmiö. Kun hermo katkeaa, neuronin solurungosta irronneet osat kuolevat ja hajoavat (University of California 2015). Myeliinitupet kuitenkin säilyvät, ja hermosäikeet pystyvät kasvamaan takaisin kohteeseensa pitkiäkin matkoja niiden sisällä edeten. Näin hermotus voi palautua esim. tylppien voimien aiheuttamien hermovaurioiden jälkeen, ja samoin esim. irronneeseen raajaan sen takaisin liittämisen jälkeen. Hermon regeneraatiota sen katkettua voidaan helpottaa kirurgialla ja siirteillä (McGilliguddy 1996).

Ihmisen ääreishermo regeneroituu tietyissä tilanteissa myös alueille, joissa ei ole ennestään myeliinituppia. Kun esim. kehon pintaan tulee vaurio, epiteelinalaiskudosta kasvaa takaisin, epiteeliä sen päälle ja näihin uusiin hermosäikeitä. Prosessi ei aina palauta alkuperäisen kaltaista hermotusta.

Vaurion jälkeen solurunkoihin kiinni jääneet aksonien osat alkavat kasvattaa distaalipäästään pieniä haaroja. Jos lähellä on tyhjiä myeliinituppia, haarat hakeutuvat niihin. Hermosäikeet suosivat niitä tuppia, joissa ne olivat alun perin. Schwannin solut erittävät hermokasvutekijöitä, jotka saavat tuppeen päätyneen haaran vahvistumaan ja kasvamaan tuppea pitkin. Prosessin alulle saaminen voi ihmisellä vaatia hermon päiden kirurgista liittämistä toisiinsa suoraan tai hermosiirteiden välityksellä. Hermosiirteiden avulla voidaan kattaa

osa matkasta, kun hermosta puuttuu pätkä tai kudokset ovat hermon katkeamisen jälkeen ehtineet vetäytyä pysyvästi.

Hermosiirteen kultastandardi on autografti eli potilaasta itsestään peräisin oleva hermo, joista käytännöllisintä on käyttää ihohermoja. Ihohermot ovat elimistön hermoista vähiten välttämättömiä ja helpoiten luoksepäästävässä. Näidenkään hermojen irrottaminen ei kuitenkaan ole ongelmatonta. Tavanomaisia allografteja käytettäessä vastaan tulevat samat ongelmat kuin elinsiirroissa yleensäkin. Kuitenkin myös soluttomat siirteet voivat olla hyödyksi, sillä Schwannin solut pystyvät sopivan kehikon avulla vaeltamaan ainakin lyhyitä matkoja (Johnson ym. 2013).

Desellularisoidulla allogeenisella siirteellä voidaan ainakin rottamallisissa saada lyhyillä matkoilla vastaava tulos kuin isograftilla eli geneettisesti identtisestä yksilöstä otetulla eläviä soluja sisältävällä siirteellä (Moore ym. 2011). Pidempiä puutosalueita paikattaessa desellularisoidun allogeenisen siirteen tuottama tulos heikkenee suhteessa isograftiin. Desellularisoidusta vainajan hermosiirteestä on tehty FDA:n hyväksymä tuote AxoGen, jota säilytetään jäädytettynä. Valmistusprosessien sovitukset massatuotantoon ja säilömisen vaatimus voivat vaatia kompromisseja biologisen toimivuuden suhteen.

FDA:n hyväksymiä johtimia ääreishermoston regeneraatiota varten on valmistettu myös muista materiaaleista (Kehoe ym. 2012). Eläinperäisiä ovat tyyppin I kollageeni ja sian ohutsuolen limakalvonalaisherros. Polyvinyylialkoholi-hydrogeeli on ei-resorboituvaa syntetistä ainetta, polyglykoli-happo ja polylaktidi-ko-karprolaktoni resorboituvia synteettisiä. Korjattavien puutosten pituudet ovat tuotteesta riippuen jossain väillä 1–6,35 cm. Tutkittu on myös ainakin verisuonten ja silikonin käyttöä. Onton kollageeniputken täyttäminen kollageeni-glykosaminoglykaanilla saattaa parantaa tulosta, mutta näyttö on epäselvää (Lee ym. 2012, Sahakyants ym. 2013). Schwannin solut integroituvat hyvin hämähäkinseittiin, ja siihen pohjautuvasta kanavasta on saatu lampailla lupaavia tuloksia myös suhteellisen pitkillä, n. 6 cm:n matkoilla (Allmeling 2006, Radtke ym. 2011).

Ääreishermoston esiklinisen tutkimuksen alla olevista soluterapioista voidaan mainita esimerkkeinä verkkokalvon ja sisäkorvan hermostokantasoluhoidot (McGill ym. 2012, Gunewardene ym. 2012).

3.2.1 Regeneraatio ihmisen keskushermostossa

Ihmisen keskushermostossa neurogeneesi täysikasvuissa on paremmin dokumentoitu ilmiö kuin ääreishermostossa. Sitä on melko pitkään tiedetty tapahtuvan hippokampuksen osassa subgranular zone (SGZ); syntyvien neuronien ei tiedetä vaeltavan hippokampuksen ulkopuolelle (Eriksson ym. 1998, Spalding ym. 2013). Hippokampus on varsinkin episodiseen muistiin tallentamisen kannalta tarpeellinen aivorakenne. Monilla nisäkkäillä lateraalisten aivokammioiden lateraaliseinämissä sijaitsevista subventricular zoneista (SVZ) vaeltaa uusia neuronien esiastesoluja hajukämeihin. Vaikka ihmisilläkin syntyy SVZ:ssä neuronien esiasteita, ne eivät näyttäisi kuitenkaan lajillamme siirtyvän hajukämeihin, minkä on ajateltu liittyvän hajuaistin vähentyneeseen merkitykseen. Melko hiljattain ihmisillä on havaittu uusia hermosoluja ilmestyvän myös aivojuovioon (corpus striatum), joka on läheisessä yhteydessä SVZ:ien kanssa (Ernst ym. 2014). Aivojuovion uudet neuronit saattavat olla lähtöisin SVZ:sta. Aivojuovio osallistuu erinäisiin motorisiin ja kognitiivisiin toimintoihin. Traumaattinen aivovaurio näyttäisi lisäävän uusien neuronien ja muiden uusien solujen määrää aivoissa (Zheng ym. 2013, Sun 2014).

Aivojen soluterapiaa on tutkittu jonkin verran. Kohdassa 2.4 mainituilla parkinsonismien ja Huntingtonin taudin fetaalisoluhoidoilla on usein saatu hyviä tuloksia. Niiden eteenpäin viemistä rajoittavat paitsi abortoitujen sikiöiden käyttöön liittyvä eettinen problematiikka, myös tietyt käytännön ongelmat. Haittavaikutuksiakin hoidoilla voi olla, kuten parkinsonismeissa liikehäiriöt (Lindvall ja Björklund 2004). Sikiöperäiset hermostokantasolut taas ovat sikiöstä valikoiduista soluista viljeltyjä soluja. Ihmisen sikiöperäisillä hermostokantasoluilla on tehty ensimmäisen vaiheen (lähinnä turvallisuutta kartoittavia) kliinisiä kokeita ainain tietyissä metabolisissa aivosairauksissa (Titomanlio ym. 2011). Napaveren yksitumaiset solut ovat tuottaneet merkittävää hyötyä Krabben oireyhtymän (demyelinisoiva sairaus) hoidossa. CP-vamman eläinmalleissa on tutkittu alkiokantasoluista erilaistettujen hermostokantasolujen, mesenkymaalisten kantasolujen ja napaverisolujen käyttöä.

Ihmisellä hermosäikeet regeneroituvat keskushermostossa huonommin kuin ääreishermostossa. Keskushermostossa myeliinituppia muodostavat Schwannin solujen sijaan oligodendrosyytit. Keskushermostossa myös esiintyy ääreishermostosta poiketen astroosyyttejä,

yhdenlaista hermotukisolutyyppeä. Kun myelinoitu aksoni katkeaa ihmisen keskushermostossa, syntyy gliaalinen arpi, joka estää aksonin kasvun takaisin kohteeseensa. Kyseinen arpi on paitsi mekaaninen, myös molekyylibiologinen este (Nordblom 2012). Gliaalisen arven massa koostuu myeliinin ja oligodendrosyyttien jäänteistä, lisääntyneistä ja kookkaammiksi tulleista astrosyyteistä sekä astrosyyttien tuottamasta, polymeroituneesta glial fibrillary acidic proteinistä. Gliaalisessa arvessa esiintyviä aksoneiden kasvua estäviä molekyylejä ovat kondroitiinisulfaattiproteoglykaanit, myelin-associated growth protein, oligodendrocyte-myelin glycoprotein ja Nogo-proteiini. Ihmisen selkäytimen valkoinen aine itsessään estää sekin aksonien kasvua.

Ne selkärankaiset, jotka pystyvät regeneroimaan katkenneen selkäytimen, eivät muodosta gliaalista arpea (Zukor ym. 2011). Vesiliskolla selkäytimen meningeali- ja endoteelisolut lisääntyvät vaurion syntymisen jälkeen muodostaen solukon, jonka soluväliaine on löyhää, ja joka sallii aksonien kasvun lävitseen. Kun vaurioitunut alue on ylitetty, aksonit jatkavat kasvuaan valkoisessa aineessa.

Ihmisen selkäydinvaurioiden korjaamiseen tähtäävää tutkimusta on tehty monesta suunnasta (Nordblom 2012). Aksoneiden regeneroituminen valkean aineen sisällä voi olla hankalaa saada aikaan, mutta jonkinasteista hyötyä voitaneen saavuttaa, vaikka tässä ei onnistuttaisikaan. Viesti voinee edetä selkäytimessä jonkin matkaa harmaatakin ainetta pitkin, jonka solupopulaatioihin tyypistyneet aksonit voidaan saada kytkeytymään. Lisäksi voi olla hyödyllistä saada palautettua pienikin osa yhteyksistä.

Erilaisia pienimolekyyllisiä aineita, kasvutekijöitä ja muita proteiineja ja soluterapioita on tutkittu, mutta läpimurtoa selkäydinvaurion hoidossa ei näyttäisi näiden pohjalta vielä syntyneen. PEG (polyetyleeniglykoli) ja kitosaani ovat polymeerejä, joita kutsutaan fusogeeniksi, koska ne pystyvät sulauttamaan katkenneen aksonin päät takaisin yhteen. Ne näyttävät myös auttavan aksoneiden kasvua ja estävän niiden degeneroitumista vaurioiden jälkeen. Fusogeenit auttavat rotilla palauttamaan selkäytimen jonkin verran, kun osa selkäytimestä on katkaistu terävästi kirurgisella veitsellä ja fusogeenit annostellaan vaurio-kohtaan välittömästi (Ye ym. 2016).

Tutkimuksessa Ye ym. (2016) rottien selkäytimen dorsaaliradat katkaistiin ja käsiteltiin paikallisesti joko PEG:llä tai kontrollina suolaliuoksella. PEG-rotilla oli tunnin kuluttua

toimenpiteestä amplitudiltaan kaksinkertaiset motoriset herätepotentiaalit kontrolleihin verrattuna. Kuukauden kuluttua PEG-rotilla oli normaaliin vertautuvat somatosensoriset herätepotentiaalit, kun taas kontrolleilla ei niitä ollut ollenkaan. Takaraajojen motoriikan palautuminen erosi suuresti PEG-rottien eduksi. Rottien sensorimotorisen funktion palautumista selkäydinvaurion jälkeen arvioidaan tutkimuksissa Basso–Beattie–Bresnahan-asteikolla, jossa pisteytys on 0–21. Kuukausi käsittelystä keskimääräinen pisteytys oli kontrolleilla 2, PEG-ryhmällä 14. PEG-ryhmän lopputulos on silti vielä kaukana hyvästä motoriikasta. Artikkelin liitteenä olevassa videossa PEG-käsitelty rotta loppuvaiheessa raahaa itseään eteenpäin melko karkeilla raajojen ja vartalon liikkeillä, mikä kuitenkin mahdollistaa ruoan luokse hakeutumisen.

Yksi mielenkiintoinen lähestymistapa tilanteeseen, jossa selkäytimestä puuttuu pätkä, ovat ääreishermosiirteet ja näiden yhdistäminen muihin strategioihin. Ääreishermosiirteiden avulla voidaan yhdistää lyhentynyt aksoni katkoskohdan toisella puolella olevaan selkäytimen harmaaseen aineeseen. Eräässä rottatutkimussarjassa ääreishermosiirteitä aluksi piti paikallaan ja suojaasi biohajoava kalsiumsulfativaliaine, joka myös vapautti siihen varastoitua FGF1-kasvutekijää (acidic Fibroblast Growth Factor) ja hepariinia (Nordblom 2012). Implantin kattama selkäytimen puutosalue oli 3 mm:n mittainen. Implanttia saamattomilla rotilla motoriset herätepotentiaalit eivät juuri palautuneet, mutta implantin saaneilla jonkin verran. Myös takaraajojen motorinen toiminta palautui implantin saaneilla hieman enemmän. (Implantin saamattomienkin palautumista tässä suhteessa selittää se, että rotta voi oppia hyödyntämään takaraajojaan liikkeessään refleksipohjaisesti myös ilman supraspinaalista kontrollia. Toiminnallisesti tulos on kuitenkin tällöin vaatimaton.) Somatosensoriset herätepotentiaalit eivät näissä tutkimuksissa palautuneet.

4. Pohdinta

Regeneratiivisen lääketieteen piiristä löytyy hyvin monenlaisia lähestymistapoja. Aika näyttää, millaisia hoitoja lopulta kehittyy.

Fetaaliset siirteet eivät vaikuta olevan tulossa laajaan käyttöön ja pluripotenteissa kantasoluissa tutkimuksen pääpaino on siirtynyt alkiokantasoluista IPS-soluihin. Solutyyppin vaihto toiseksi onnistuu joissain tapauksissa myös ilman IPS-vaihetta, kuten esim. tutkimuksessa, jossa fibroblastit saatiin Foxn1-transkriptiotekijää ilmentämällä muuttumaan kateenkorvan epiteelisoluiksi (Bredenkamp ym. 2014). Erilaisilla kantasoluilla ja solujen erilaistumisen ohjaamisella on tärkeä osa monissa regeneratiivisen lääketieteen strategioissa, mutta toistaiseksi uudet soluterapiat eivät ole vakiintuneet kliiniseen käyttöön. Kudos- ja elinsiirroissa toki siirtyy paikallisia esiaste- ja kantasoluja, ja hematopoeettisia kantasoluja on siirretty pitkään.

Pään muodostuminen ainakin joidenkin selkärankaisten yksilönkehityksessä osataan estää ja mediassa on aikoinaan pohdiskeltu melko laajaltikin, olisiko päättömien ihmisten kasvatusta siirtoelinten lähteeksi tai siirtokehoiksi mielekäs projekti (Kim ym. 2000, Morton 1997). Lähestymistapa ei näytä sisältyvän regeneratiivisen lääketieteen nykyisiin paradigmoihin. Oli ajatuksen eettisistä ulottuvuuksista ja teknisestä toteutuskelpoisuudesta mitä mieltä tahansa, realiteetti lienee, että hankkeelle olisi huomattavasti vaikeampaa saada yleistä hyväksyntää kuin alkiokantasolutekniikalle.

Ksenotransplantaatiossa tavoitteena on kasvattaa toisen lajin edustaja pään kera samoihin tarkoituksiin. Ihmissyhteensopivaa elinten lähdeä ei toistaiseksi ole näillä keinoin saatu aikaan, ja on vaikea sanoa, milloin tämä voisi tapahtua. Luovuttavan organismin geenitekniistä muokkausta vaadittaisiin luultavasti melko paljon, mikä on toisaalta nykyään realistisempaa kuin ennen. Uudemmassa lähestymistavassa sijoitetaan eläimen alkioon ihmisen soluja tarkoituksena, että nämä muodostaisivat spesifejä elimiä, mutta kyseinen tutkimus on vielä melko alkutekijöissä sekä kiistanalaisempaa kuin pelkkä eläimen genotyypin muokkaus immunologisesti yhteensopivaksi (Wu ym. 2017).

Rakenteen kasvatus viljelystä silmusta osin siirteen saajan sisällä on joiltain osin alkionkehitystä jäljittelevä lähestymistapa, joka näyttäisi tähän mennessä myös suhteellisen menestyksekkäältä. Esim. maksa- ja kateenkorvakudoksen tuottaminen viljeltyä solukkoa istuttamalla näyttäisi onnistuvan eläintutkimuksissa melko hyvin. Organoideja viljelemällä saatetaan jossain vaiheessa saada aikaan jotain istutteenä toimivaa; lupaavia eläintutkimuksia on mm. munuaiseen ja maksanulkoisiin sappiteihin liittyen (Lancaster ja Knoblich 2014, Sampaziotis 2017). 3D-bioprinttausta voidaan hyödyntää viljeltäessä alkiokantasoluista embryoideja, useista soluista koostuvia palloja (Ouyang ym. 2015). Embryoideja saadaan tuotettua myös IPS-soluista (Pettinato ym. 2014). Embryoidit taas toimivat lähtökohtana esim. organoidien tuottamiselle.

Desellularisoituja materiaaleja hyödynnetään jo kliinisesti mm. sydämen läppäkirurgiassa sekä luuston ja ääreishermoston puutosten ja tyrien ja palovammojen korjauksessa (Song ja Ott 2011, Moore 2011). Mm. tiettyjen pehmytkudospuusten korjaaminen saattaa olla lähitulevaisuuden uusia sovellutuksia. Desellularisoidulla kudossiirteellä on saatu korjattua eläintutkimuksessa mm. luurankolihasen plastista puutosta ja nivelruston vaurioita (Turner ym. 2010, Benders 2013). Tutkimus desellularisointi-resellularisoinen menetelmän soveltamisesta monimutkaisempiin rakenteisiin, kuten sisäelimiin ja raajoihin, on edennyt nopeasti. Tuotetut elimet eivät kuitenkaan vielä toimi riittävän hyvin, ja on vaikea sanoa, kuinka pitkän kehityskulun takana kliinisesti käyttökelpoinen tuote olisi.

Sisäiseltä rakenteeltaan monimutkaisten elinten tuottaminen 3D-bioprinttauksella näyttäisi olevan vieläkin kaukaisempi mahdollisuus teknologian tämänhetkisen tilan pohjalta arvioituna. Esim. luu-, rusto- ja luurankolihaspuutosten korjaaminen bioprinttaamalla saattaa sen sijaan olla suhteellisen lähelläkin, sillä näissä on edistytty eläintutkimuksissa paljon (Kang ym. 2016). Pienikokoisten ja etenkin litteiden tai putkimaisten rakenteiden tuottamista pidetään yleisesti helpompana kuin suurien ja tilaa täyttävien. Verisuonten tuottaminen on yksi suhteellisen vilkas tutkimuskenttä, jossa bioprinttausta sovelletaan (Hoch ym. 2014). Joka tapauksessa bioprinttaus mahdollistaa biologisten ja muiden komponenttien asettelun kolmessa ulottuvuudessa eksaktisti ja automatisoidusti, ja lienee siksi jatkossa tärkeä työväline monenlaisessa biomedikaalisessa tutkimus- ja kehitystyössä.

Kehittyvän teknologian avulla voi tulla mahdolliseksi paremmin ylläpitää ja kasvattaa erilaisia rakenteita kehon ulkopuolella. Bioreaktorit voivat kehittyä ja toisaalta siirtoelinten

ylläpitämiseksi kehitetään järjestelmiä, joilla jäljitellään elimistön olosuhteita (Warnecke ym. 2012). Näissä siirtoelimiä pidetään ruumiinlämpötilassa ja niiden läpi kierrätetään punasoluja ym. tarpeellisia komponentteja sisältävää liuosta. Tällä tähdätään siirtoelinten säilytysajan pidentämiseen. Tällä tavoin menetelmä voi myös mahdollistaa joidenkin selulaisten elinten käytön, jotka olisivat lähtökohtaisesti liian vioittuneita perinteiseen tapaan hyödynnettäviksi. Vioittuneiden siirtoelinten korjautuminen järjestelmässä on myös mahdollisuus. Vaikka siirtoelinten tämäntapainen ylläpito on vielä tutkimuksellista, yksinkertaisempia elimiä, kuten munasarjoja ja kilpirauhasta, on pystytty ylläpitämään elimistön ulkopuolella pitkiä aikoja yksinkertaisemmin menetelmin jo melko pitkään (Carrel ja Lindbergh 1935).

Verisuonituksen aikaansaaminen bioprintattavaan siirteeseen on todettu haastavaksi esim. virtsarakkosierrettä kehitettäessä, vaikka muunlaisissa sovellutuksissa verisuonistoa on kasvanut tulosteeseen istutuksen jälkeen (Osborn ja Kurzrock 2015, Kang 2016). Uuden verisuonituksen kasvattaminen olisi yksinäänkin hyödyllistä iskeemisissä taudeissa, kuten sepelvaltimotaudissa ja alaraajojen valtimokovettumataudissa. Uutta verisuonistoa syntyy elimistössä vaskulogeneesin, angiogeneesin ja arteriogeneesin kautta (Moya ja Brey 2013). Vaskulogeneesi on kudokseen verenkierrosta päätyvien endoteelisolujen esiasteiden järjestäytymistä suonistoksi, angiogeneesi uusien haarojen kasvamista olemassaolevista verisuonista ja arteriogeneesi valtimoiden tai pikkuvaltimoiden kasvamista entistä suuremmiksi.

Mikäli siirre ei tarvitse välittömästi siirron jälkeen eikä sitä ennen verenkiertoa, verisuonisto voi muodostua istutuksen jälkeen edellä mainittuja mekanismeja hyödyntäen. Verisuonia muodostavien solujen tai vaikka hiussuonten fragmenttien sijoitus siirteeseen edesauttaa prosessia (Hoch ym. 2014). Isokokoisiin, ei-litteisiin tulosteisiin verisuoniston tuottaminen ennen siirtoa lienee tarpeellista ainakin, jos niissä on jo tässä vaiheessa runsaasti soluja aineenvaihdunnallisine vaatimuksineen. Jatkovaa kanavistoa voidaan myös hyödyntää rakenteen tuottamisessa ja ylläpidossa ennen istutusta.

Mikrovaskulaarista verkostoa on saatu muodostamaan viljelmässä viljelemällä esiastesoluja geeleissä. Viimeaikaisessa tutkimuksessa saatiin hyviä tuloksia verihitalelysaattigeeliä käyttäen (Fortunato ym. 2016). Tutkimuksessa ihmisperäisen verihitalepitoisen plasman verihitaleet hajotettiin ultraäänellä ja suspensio gelatoitiin trombiinilla. Ennen geelilyty-

mistä mukaan sekoitettiin endothelial colony forming cell -soluja (ECFC), jotka oli eristetty ihmisen verestä. Kolmen vuorokauden aikana tämän kolmiulotteisen viljelmän ECFC-solut järjestäytyivät mikroverisuonistoksi. Sama tehtiin myös kollageeni I -geelillä ja fibriinigeelillä, joissa vastaavaa ei tapahtunut.

Verihiutalelysaatissa on biologisesti aktiivisina konsentraatioina kasvutekijöitä, kuten VEGF-A:ta, EGF:ää ja PDGF-BB:tä. Tutkimuksessa kuitenkin pääteltiin, että ne eivät yksinään selitä valmisteen vaikutusta ECFC-soluihin. Luultavasti myös ainakin lymfaattien rakenneproteiineilla on merkitystä.

Toisessa tutkimuksessa selvitettiin erityyppisten integriinien stimuloinnin vaikutusta verisuoniston muodostumiseen (Li ym. 2017). Hyaluronaattigeeliin sidottiin rekombinanttitekniikalla tuotettuja fibronektiinifragmentteja, joiden sekvenssiä oli muokattu niin, että ne stimuloivat tiettytyyppisiä integriinejä. Geelissä kasvatettiin *in vitro* ihmisen napalaskimon endoteelisoluja ja ihmisen verinahan fibroblasteja. Geeliä myös istutettiin eläimiin ihon ja lihaksen väliin ja iskeemiseen aivoalueeseen. Tutkimuksessa todettiin, että $\alpha3/\alpha5\beta1$ -tyyppistä integriiniä stimuloiva ympäristö sai viljelmässä kehittymään normaalisti organisoitunutta verisuonistoa, kun taas $\alpha v\beta3$ -tyyppisen integriinin stimulointi sai aikaan epäorganisointuneita, rykelmäisiä suonistoja. Vastaavasti $\alpha3/\alpha5\beta1$ -integriiniä stimuloivaan geeliin kasvoi ihon alla normaalisti levittäytyvää suonistoa, kun taas $\alpha v\beta3$ -integriiniä stimuloivaan geeliin kasvoi tiheää, kiemuraista suonistoa. Iskeemisellä aivoalueella $\alpha3/\alpha5\beta1$ -stimulaatio lisäsi verisuonten muodostumista, ja syntyvät verisuonet eivät vuotaneet. $\alpha v\beta3$ -stimulaatio puolestaan lisäsi verisuonten muodostumista vain vähäisesti, ja syntyneet suonet vuosisivat.

Mm. näiden tutkimusten pohjalta verisuonituksen tuottaminen siirteeseen vaikuttaisi ratkaistavissa olevalta ongelmalta. Verisuonten muodostumista edistävät ja ohjaavat komponentit täytyy sijoittaa tuotokseen yhdessä kaikkien muiden asioiden kanssa, mikä tietysti monimutkaistaa prosessia.

Regeneratiivinen lääketiede voi tulevaisuudessa toimia hoitona ainakin osaan biologisen vanhenemisen aiheuttamista muutoksista. Jos jokin rakenne pystytään tuottamaan keinotekoisesti, se voidaan vaihtaa rapistuneen tilalle. Voi olla, että vanhan yksilön omia soluja ei ainakaan kaikissa tapauksissa kannata käyttää regeneratiivisiin hoitoihin ainakaan sellaisi-

naan, koska ne ovat itse käyneet läpi vanhenemisprosessia. Toisaalta on tutkimustietoa, jonka mukaan IPS-prosessi ainakin joiltain osin nuorentaisi solut, vaikkakin myös tuloksia, joiden mukaan nuorentuminen olisi epätäydellistä (Lapasset ym. 2011, Yagi ym. 2012, Sikora 2013, Rohani ym. 2014). Muitakin mahdollisuuksia immunologisesti yhteensopivien nuorempien solujen tuottamiseksi on, kuten terapeuttiivinen kloonauk (joka on tosin ollut kiistanalaista) ja solupankit. Mitokondrioiden vaihto viljelmässä nuoren yksilön solusta vanhan yksilön soluun voi myös olla tutkimisen arvoista.

Regeneratiivisen lääketieteen alalla tehdään paljon ja monipuolisesti tutkimus- ja kehitystyötä, ja uusia aikaansaannoksia raportoidaan tiheään. Kun jokin asia on saatu toimimaan eläinmallissa, on klinikkaan kuitenkin vielä matkaa, ja laaja käyttöönotto on mahdollista vain, jos hoidon kustannukset pysyvät siedettävänä. Jotkin tekniikat, kuten alkiokantasolujen tuottaminen, törmäävät eettisiin kiistoihin, mikä ohjaa resursseja muiden lähestymistapojen tutkimiseen. Tiedon kertyminen ja metodologian kehittyminen on kuitenkin kiistatonta.

5. Lähteet

- Abbas A. K. R., Lichtman A. H., Pillai S., 2010. Cellular and molecular immunology. 6. painos. Elsevier Saunders: MD Consult, Saunders, Philadelphia.
- Allmeling C, Jokuszies A, Reimers K, Kall S & Vogt PM, 2006. Use of spider silk fibres as an innovative material in a biocompatible artificial nerve conduit. *J. Cell. Mol. Med.* 10: 770-777.
- Allsopp RC, Morin GB, Horner JW, DePinho R, Harley CB & Weissman IL, 2003. Effect of TERT over-expression on the long-term transplantation capacity of hematopoietic stem cells. *Nat. Med.* 9: 369-371.
- Alvarado AS & Tsonis PA, 2006. Bridging the regeneration gap: genetic insights from diverse animal models. *Nat. Rev. Genet.* 7: 873-884.
- Annabi N, Nichol JW, Zhong X, Ji C, Koshy S, Khademhosseini A & Dehghani F, 2010. Controlling the porosity and microarchitecture of hydrogels for tissue engineering. *Tissue Eng. Part B. Rev.* 16: 371-383.
- Atala A, Bauer SB, Soker S, Yoo JJ & Retik AB, 2006. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *Lancet* 367: 1241-6.
- Austad SN, Masoro EJ (toim.), 2010. Handbook of the biology of aging. Academic Press, London.
- Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, Saltness RA, Jeganathan KB, Verzosa GC, Pezeshki A, Khazaie K, Miller JD & van Deursen JM, 2016. Naturally occurring p16Ink4a-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530: 184-189.
- Barrangou R, 2014. Cas9 Targeting and the CRISPR Revolution. *Science* 344: 707-708.
- Bauer AM, Russell AP & Shadwick RE, 1989. Mechanical properties and morphological correlates of fragile skin in gekkonid lizards. *Journal of Experimental Biology* 145: 79-102.
- Beerman I, Bock C, Garrison B, Smith Z, Gu H, Meissner A & Rossi D, Proliferation-dependent alterations of the DNA methylation landscape underlie hematopoietic stem cell aging. *Cell Stem Cell* 12: 413-425.
- Bely AE, 2010. Evolutionary loss of animal regeneration: pattern and process. *Integrative and Comparative Biology* 50: 515-527.
- Benders KEM, Weeren PR, Badylak SF, Saris DBF, Dhert WJA & Malda J, 2013. Extracellular matrix scaffolds for cartilage and bone regeneration. *Trends Biotechnol.* 31: 169-176.

- Berlanga-Acosta J, Gavilondo-Cowley J, López-Saura P, González-López T, Castro-Santana MD, López-Mola E, Guillén-Nieto G & Herrera-Martinez L, 2009. Epidermal growth factor in clinical practice - a review of its biological actions, clinical indications and safety implications. *International Wound Journal* 6: 331-346.
- Bernstein HS (toim.), 2011. *Tissue engineering in regenerative medicine*. Humana Press, New York.
- Bloomfield P, 2002. Choice of heart valve prosthesis. *Heart* 87: 583-589.
- Bredenkamp N, Ulyanchenko S, O'Neill KE, Manley NR, Vaidya HJ & Blackburn CC, 2014. An organized and functional thymus generated from FOXP1-reprogrammed fibroblasts. *Nat. Cell Biol.* 16: 902-908.
- Brockes JP & Kumar A, 2002. Plasticity and reprogramming of differentiated cells in amphibian regeneration. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3: 566-574.
- Carrel A & Lindbergh CA, 1935. The Culture of Whole Organs. *Science* 81: 621-623.
- Cassidy JW, 2014. Nanotechnology in the regeneration of complex. *Bone and tissue regeneration insights* 5: 25-35.
- Chenard KE, Teven CM, He T & Reid RR, 2012. Bone morphogenetic proteins in craniofacial surgery: current techniques, clinical experiences, and the future of personalized stem cell therapy. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2012: 14.
- Chong S & Whitelaw E, 2004. Epigenetic germline inheritance. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14: 692-696.
- Chtarto A, Bender HU, Hanemann CO, Kemp T, Lehtonen E, Levivier M, Brotchi J, Velu T & Tenenbaum L, 2003. Tetracycline-inducible transgene expression mediated by a single AAV vector. *Gene Ther.* 10: 84-94.
- Clark RAF, 2001. Fibrin and wound healing. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 936: 355-367.
- Coghlan A, 2014. Stem cell timeline: the history of a medical sensation. *New Scientist, Daily News*. Verkkodokumentti. Päivitetty 30.1.2014. Saatavilla: <https://www.newscientist.com/article/dn24970-stem-cell-timeline-the-history-of-a-medical-sensation/>. Viitattu 2/3/2018.
- Cong Y, Wright WE & Shay JW, 2002. Human telomerase and its regulation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66: 407-425.
- Correia-Melo C, Marques FD, Anderson R, Hewitt G, Hewitt R, Cole J, Carroll BM, Miwa S, Birch J, Merz A, Rushton MD, Charles M, Jurk D, Tait SW, Czapiewski R, Greaves L, Nelson G, Bohlooly-Y M, Rodriguez-Cuenca S, Vidal-Puig A, Mann D, Saretzki G, Quarato G, Green DR, Adams PD, von Zglinicki T, Korolchuk VI & Passos JF, 2016. Mi-

tochondria are required for pro-ageing features of the senescent phenotype. *EMBO J.* 35(7): 724–742.

Czaja K, Fornaro M & Geuna S, 2012. Neurogenesis in the adult peripheral nervous system. *Neural Regeneration Research* 7: 1047-1054.

de Grey ADNJ, Rae M, 2007. Ending aging: the rejuvenation breakthroughs that could reverse human aging in our lifetime. St. Martin's Press, New York.

de Grey ADNJ, Alvarez PJJ, Brady RO, Cuervo AM, Jerome WG, McCarty PL, Nixon RA, Rittmann BE & Sparrow JR, 2005. Medical bioremediation: prospects for the application of microbial catabolic diversity to aging and several major age-related diseases. *Ageing Research Reviews* 4: 315-338.

Drexler KE, 2006. Engines of creation 2.0. WOWIO LLC.

Dumitriu S (toim.), 2002. Polymeric biomaterials. Marcel Dekker, New York, Basel.

Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA & Gage FH, 1998. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine* 4: 1313-1317.

Ernst A, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Perl S, Tisdale J, Possnert G, Druid H & Frisén J, 2014. Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. *Cell* 156: 1072-1083.

Fisher JP, Mikos GA, Bronzino JD & Peterson DR (toim.), 2013. Tissue engineering: principles and practices. CRC Press, Boca Raton.

Forbes SJ & Rosenthal N, 2014. Preparing the ground for tissue regeneration: from mechanism to therapy. *Nat. Med.* 20: 857-869.

Fortunato TM, Beltrami C, Emanuelli C, De Bank PA & Pula G, 2016. Platelet lysate gel and endothelial progenitors stimulate microvascular network formation in vitro: tissue engineering implications. *Scientific Reports* 6: 25326.

Freeman S, 2005. Biological science. 2. painos. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J.

Gaum L, Reynolds I, Jones MNA, Clarkson AJ, Gillan HL & Kaye SB, 2012. Tissue and corneal donation and transplantation in the UK. *British Journal of Anaesthesia* 108: i43-i47.

Gemberling M, Bailey TJ, Hyde DR & Poss KD, 2013. The zebrafish as a model for complex tissue regeneration. *Trends in Genetics* 29: 611-620.

Goss RJ. Regeneration. *Encyclopedia Britannica*. Verkkodokumentti. Päivitetty 2.11.2014. Saatavilla: <http://global.britannica.com/EBchecked/topic/495880/regeneration>. Viitattu 4/11/2015.

Greggio C, De Franceschi F, Figueiredo-Larsen M, Gobaa S, Ranga A, Semb H, Lutolf M & Grapin-Botton A, 2013. Artificial three-dimensional niches deconstruct pancreas development in vitro. *Development* 140: 4452-4462.

Gudapati H, Dey M & Ozbolat I, 2016. A comprehensive review on droplet-based bioprinting: Past, present and future. *Biomaterials* 102: 20-42.

Gull I, Geva E, Lerner-Geva L, Lessing JB, Wolman I & Amit A, 1999. Anaerobic glycolysis: the metabolism of the preovulatory human oocyte. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 85: 225-228.

Günes C & Rudolph K, 2013. The role of telomeres in stem cells and cancer. *Cell* 152: 390-393.

Gunewardene N, Dottori M & Nayagam BA, 2012. The convergence of cochlear implantation with induced pluripotent stem cell therapy. *Stem Cell. Rev.* 8: 741-754.

Haller H, de Groot K, Bahlmann F, Elger M & Fliser D, 2005. Stem cells and progenitor cells in renal disease. *Kidney Int.* 68: 1932-1936.

Hardwicke J, Schmaljohann D, Boyce D & Thomas D, 2008. Epidermal growth factor therapy and wound healing — past, present and future perspectives. *The Surgeon* 6: 172-177.

Hayflick L & Moorhead PS, 1961. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25: 585-621.

Heber-Katz E, Leferovich JM, Bedelbaeva, K & Gourevitch D. *Teoksessa Regeneration: stem cells and beyond* (toim. Heber-Katz E), 165-189. Springer, Berliini; Lontoo, 2004.

Hersel U, Dahmen C & Kessler H, 2003. RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. *Biomaterials* 24: 4385-4415.

Hoch E, Tovar GE & Borchers K, 2014. Bioprinting of artificial blood vessels: current approaches towards a demanding goal. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 46: 767-778.

Holliday R, 1996. *Understanding ageing*. Cambridge University Press, Cambridge.

Hou P, Li Y, Zhang X, Liu C, Guan J, Li H, Zhao T, Ye J, Yang W, Liu K, Ge J, Xu J, Zhang Q, Zhao Y & Deng H, 2013. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. *Science* 341: 651-654.

Hughes CS, Postovit LM & Lajoie GA, 2010. Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture. *Proteomics* 10: 1886-1890.

Hutchins ED, Markov GJ, Eckalbar WL, George RM, King JM, Tokuyama MA, Geiger LA, Emmert N, Ammar MJ, Allen AN, Siniard AL, Corneveaux JJ, Fisher RE, Wade J,

- DeNardo DF, Rawls JA, Huentelman MJ, Wilson-Rawls J & Kusumi K, 2014. Transcriptomic analysis of tail regeneration in the lizard *Anolis carolinensis* reveals activation of conserved vertebrate developmental and repair mechanisms. *PLoS ONE* 9: e105004.
- Iop L, Bonetti A, Naso F, Rizzo S, Cagnin S, Bianco R, Dal Lin C, Martini P, Poser H, Franci P, Lanfranchi G, Busetto R, Spina M, Basso C, Marchini M, Gandaglia A, Ortolani F & Gerosa G, 2014. Decellularized allogeneic heart valves demonstrate self-regeneration potential after a long-term preclinical evaluation. *PLoS ONE* 9: e99593.
- Issa F & Wood KJ, 2012. Translating tolerogenic therapies to the clinic - where do we stand? *Frontiers in Immunology* 3: 254.
- Jalanko H & Mäkisalo H, 2004. Mitä siirrämme tulevaisuudessa? *Duodecim* 120: 1355-7.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez X, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA & Verfaillie CM, 2007. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 447: 880-881.
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA & Charpentier E, 2012. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337: 816-821.
- Johnson PJ, Wood MD, Moore AM & Mackinnon SE, 2013. Tissue engineered constructs for peripheral nerve surgery. *European Surgery* 45: 122-135.
- Joyce N, Annett G, Wirthlin L, Olson S, Bauer G & Nolte JA, 2010. Mesenchymal stem cells for the treatment of neurodegenerative disease. *Regenerative medicine* 5: 933-946.
- Justin AW, Brooks RA & Markaki AE, 2016. Multi-casting approach for vascular networks in cellularized hydrogels. *J R Soc Interface* 13(125).
- Kang H, Lee SJ, Ko IK, Kengla C, Yoo JJ & Atala A, 2016. A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nat Biotech* 34: 312-319.
- Karp G, 2010. *Cell and molecular biology: concepts and experiments*. John Wiley, Hoboken, N.J.
- Kehoe S, Zhang XF & Boyd D, 2012. FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy. *Injury* 43: 553-572.
- Kellar CA, 2015. Solid organ transplantation overview and delection criteria. *Am. J. Manag. Care* 21: S4-11.
- Kim C, Oda T, Itoh M, Jiang D, Artinger KB, Chandrasekharappa SC, Driever W & Chitnis AB, 2000. Repressor activity of *Headless/Tcf3* is essential for vertebrate head formation. *Nature* 407: 913-916.

- Kirkham M, Hameed LS, Berg DA, Wang H & Simon A, 2014. Progenitor cell dynamics in the newt telencephalon during homeostasis and neuronal regeneration. *Stem Cell Reports* 2: 507-519.
- Kumpta SM, Chow LTC, Griffith J, Fu LLK & Leung PC. Teoksessa The scientific basis of tissue transplantation (toim. Nather A) 455-472 (World Scientific, New Jersey, 2001).
- Lancaster MA & Knoblich JA, 2014. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science* 345.
- Lane N, 2005. Power, sex, suicide mitochondria and the meaning of life. Oxford University Press, Oxford; New York.
- Lapasset L, Milhavet O, Prieur A, Besnard E, Babled A, Ait-Hamou N, Leschik J, Pelletor F, Ramirez J, De Vos J, Lehmann S & Lemaitre J, 2011. Rejuvenating senescent and centenarian human cells by reprogramming through the pluripotent state. *Genes & Development* 25: 2248-2253.
- Lee J, Giusti G, Friedrich PF, Archibald SJ, Kemnitzer JE, Patel J, Desai N, Bishop AT & Shin AY, 2012. The Effect of Collagen Nerve Conduits Filled with Collagen-Glycosaminoglycan Matrix on Peripheral Motor Nerve Regeneration in a Rat Model. *The Journal of Bone & Joint Surgery* 94: 2084-2091.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM, 2005. *Lehninger principles of biochemistry*. W.H. Freeman, New York.
- Leung A, Crombleholme TM & Keswani SG, 2012. Fetal wound healing: implications for minimal scar formation. *Curr. Opin. Pediatr.* 24: 371-378.
- Li S, Nih LR, Bachman H, Fei P, Li Y, Nam E, Dimatteo R, Carmichael ST, Barker TH & Segura T, 2017. Hydrogels with precisely controlled integrin activation dictate vascular patterning and permeability. *Nat Mater* 16: 953-961.
- Ouyang L, Yao R, Mao S, Chen X, Na J & Sun W, 2015. Three-dimensional bioprinting of embryonic stem cells directs highly uniform embryoid body formation. *Biofabrication* 7: 044101.
- Lindvall O & Björklund A, 2004. Cell Therapy in Parkinson's Disease. *NeuroRx* 1: 382-393.
- Liu L & Rando TA, 2011. Manifestations and mechanisms of stem cell aging. *J. Cell Biol.* 193: 257-266.
- Loeser RF, 2009. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix. *Osteoarthr. Cartil.* 17: 971-979.
- Maher B, 2013. Tissue engineering: how to build a heart. *Nature* 499: 20-22.

- McGill TJ, Cottam B, Lu B, Wang S, Girman S, Tian C, Huhn SL, Lund RD & Capela A, 2012. Transplantation of human central nervous system stem cells - neuroprotection in retinal degeneration. *Eur. J. Neurosci.* 35: 468-477.
- McGillicuddy JE. *Teoksessa Neurosurgery, vol. III. (toim. Wilkins, R. H. & Rengachary, S. S.) 3179-3191 (McGraw-Hill, Health Professions Division, New York, 1996).*
- Miettinen S, 2017. Elimen kasvattaminen kantasoluista - science fictionia vai tulevaisuutta? *Duodecim* 133: 2433-8.
- Mironov V, Visconti RP, Kasyanov V, Forgacs G, Drake CJ & Markwald RR, 2009. Organ printing: Tissue spheroids as building blocks. *Biomaterials* 30: 2164-2174.
- Modulevsky DJ, Cuerrier CM & Pelling AE, 2016. Biocompatibility of subcutaneously implanted plant-derived cellulose biomaterials. *PLOS ONE* 11: e0157894.
- Moore AM, Macewan M, Santosa KB, Chenard KE, Ray WZ, Hunter DA, Mackinnon SE & Johnson PJ, 2011. Acellular nerve allografts in peripheral nerve regeneration: A comparative study. *Muscle Nerve* 44: 221-234.
- Moran EC, Dhal A, Vyas D, Lanas A, Soker S & Baptista PM, 2014. Whole-organ bioengineering: current tales of modern alchemy. *Translational Research; Regenerative Medicine: The Hurdles and Hopes* 163: 259-267.
- Morton O, 1997. First Dolly, Now Headless Tadpoles. *Science* 278: 798-798.
- Moya ML & Brey EM. *Teoksessa Tissue engineering: principles and practices (toim. Fisher JP, Mikos GA, Bronzino JD & Peterson DR) 24-1-24-17 (CRC Press, Boca Raton, 2013).*
- Murphy SV & Atala A, 2014. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotech* 32: 773-785.
- Nordblom J, 2012. A regeneration strategy for spinal cord injury. *Väitöskirja. Karolinska Institutet.*
- Orlando G, 2014. *Regenerative medicine applications in organ transplantation. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston.*
- Osborn SL & Kurzrock EA, Bioengineered Bladder Tissue—Close but Yet So Far! *J. Urol.* 194: 619-620.
- Ott HC, Clippinger B, Conrad C, Schuetz C, Pomerantseva I, Ikonomou L, Kotton D & Vacanti JP, 2010. Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. *Nat. Med.* 16: 927-933.
- Pennisi E, 2013. The CRISPR Craze. *Science* 341: 833-836.

Pettinato G, Wen X & Zhang N, 2014. Formation of Well-defined Embryoid Bodies from Dissociated Human Induced Pluripotent Stem Cells using Microfabricated Cell-repellent Microwell Arrays. *Scientific Reports* 4: 7402.

Pietilä M, Lehtonen S, Närhi M, Hassinen IE, Leskelä H, Aranko K, Nordström K, Vepsäläinen A & Lehenkari P, 2010. Mitochondrial Function Determines the Viability and Osteogenic Potency of Human Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Engineering Part C: Methods* 16: 435-445.

Poleo G, Brown CW, Laforest L & Akimenko M, 2001. Cell proliferation and movement during early fin regeneration in zebrafish. *Developmental Dynamics* 221: 380-390.

Radtke C, Allmeling C, Waldmann K, Reimers K, Thies K, Schenk HC, Hillmer A, Guggenheim M, Brandes G & Vogt PM, 2011. Spider Silk Constructs Enhance Axonal Regeneration and Remyelination in Long Nerve Defects in Sheep. *PLOS ONE* 6: e16990.

Rafalski VA, Mancini E & Brunet A, 2012. Energy metabolism and energy-sensing pathways in mammalian embryonic and adult stem cell fate. *J. Cell. Sci.* 125: 5597-5608.

Rajangam T & An SS, 2013. Fibrinogen and fibrin based micro and nano scaffolds incorporated with drugs, proteins, cells and genes for therapeutic biomedical applications. *Int. J. Nanomedicine* 8: 3641-3662.

Ridley M, 1993. *The red queen: sex and the evolution of human nature*. Perennial, New York.

Rippel R, Ghanbari H & Seifalian A, 2012. Tissue-Engineered Heart Valve: Future of Cardiac Surgery. *World J. Surg.* 36: 1581-1591.

Rodier F & Campisi J, 2011. Four faces of cellular senescence. *J. Cell Biol.* 192: 547-556.

Rohani L, Johnson AA, Arnold A & Stolzing A, 2014. The aging signature: a hallmark of induced pluripotent stem cells? *Aging Cell.* 13: 2-7.

Rossi F & Cattaneo E, 2002. Neural stem cell therapy for neurological diseases: dreams and reality. *Nat. Rev. Neurosci.* 3: 401-409.

Sahakyants T, Lee J, Friedrich PF, Bishop AT & Shin AY, 2013. Return of motor function after repair of a 3-cm gap in a rabbit peroneal nerve: a comparison of autograft, collagen conduit, and conduit filled with collagen-GAG matrix. *The Journal of Bone & Joint Surgery* 95: 1952-1958.

Sampaziotis F, Justin AW, Tysoe OC, Sawiak S, Godfrey EM, Upponi SS, Gieseck III R.L., de Brito MC, Berntsen NL, Gomez-Vazquez M, Ortmann D, Yiangou L, Ross A, Bargehr J, Bertero A, Zonneveld MCF, Pedersen MT, Pawlowski M, Valestrand L, Madrigal P, Georgakopoulos N, Pirmadjid N, Skeldon GM, Casey J, Shu W, Materek PM, Snijders KE, Brown SE, Rimland CA, Simonic I, Davies SE, Jensen KB, Zilbauer M, Gel-

- son WTH, Alexander GJ, Sinha S, Hannan NRF, Wynn TA, Karlsen TH, Melum E, Markaki AE, Saeb-Parsy K & Vallier L, 2017. Reconstruction of the mouse extrahepatic biliary tree using primary human extrahepatic cholangiocyte organoids. *Nat. Med.* 23: 954-963.
- Santini MP, Tsao L, Monassier L, Theodoropoulos C, Carter J, Lara-Pezzi E, Slonimsky E, Salimova E, Delafontaine P, Song Y, Bergmann M, Freund C, Suzuki K & Rosenthal N, 2007. Enhancing repair of the mammalian heart. *Circulation Research* 100: 1732-1740.
- Schacht K & Scheibel T, 2014. Processing of recombinant spider silk proteins into tailor-made materials for biomaterials applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 29: 62-69.
- Schall CA & Baker JR. HLA Matching, Antibodies, and You. Verkkodokumentti. Saata-villa: <http://web.stanford.edu/dept/HPS/transplant/html/hla.html>. Viitattu 4/12/2015.
- Seifert AW, Kiama SG, Seifert MG, Goheen JR, Palmer TM & Maden M, 2012. Skin shedding and tissue regeneration in African spiny mice (*Acomys*). *Nature* 489: 561-565.
- Sherry DF & Hoshooley JS, 2010. Seasonal hippocampal plasticity in food-storing birds. *Phil. Trans. R. Soc.* 365: 933-943.
- Sikora E, 2013. Rejuvenation of senescent cells—The road to postponing human aging and age-related disease? *Exp. Gerontol.* 48: 661-666.
- Sinclair KD, Corr SA, Gutierrez CG, Fisher PA, Lee J-, Rathbone AJ, Choi I, Campbell KHS & Gardner DS, 2016. Healthy ageing of cloned sheep. *Nature Communications* 7: 12359.
- Smalley RE, 2001. Of chemistry, love and nanobots. *Scientific American* 76-77.
- Song JJ, Kim SS, Liu Z, Madsen JC, Mathisen DJ, Vacanti JP & Ott HC, 2011. Enhanced in vivo function of bioartificial lungs in rats. *Ann. Thorac. Surg.* 92: 998-1006.
- Song JJ & Ott HC, Organ engineering based on decellularized matrix scaffolds. *Trends Mol. Med.* 17: 424-432.
- Spalding K, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner H, Boström E, Westerlund I, Vial C, Buchholz B, Possnert G, Mash D, Druid H & Frisén J, 2013. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 153: 1219-1227.
- Spees JL, Olson SD, Whitney MJ & Prockop DJ, 2006. Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 1283-1288.
- Stewart DJ, Kutryk MJB, Fitchett D, Freeman M, Camack N, Su Y, Siega AD, Bilodeau L, Burton JR, Proulx G & Radhakrishnan S, 2009. VEGF gene therapy fails to improve per-

fusion of ischemic myocardium in patients with advanced coronary disease: results of the NORTHERN trial. *Mol. Ther.* 17: 1109-1115.

Sun D, 2014. The potential of endogenous neurogenesis for brain repair and regeneration following traumatic brain injury. *Neural Regeneration Research* 9: 688-692.

Tachibana M, Amato P, Sparman M, Gutierrez N, Tippner-Hedges R, Ma H, Kang E, Fulati A, Lee H, Sritanandomchai H, Masterson K, Larson J, Eaton D, Sadler-Fredd K, Battaglia D, Lee D, Wu D, Jensen J, Patton P, Gokhale S, Stouffer R, Wolf D & Mitalipov S, 2013. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell* 153: 1228-1238.

Takebe T, Sekine K, Enomura M, Koike H, Kimura M, Ogaeri T, Zhang R, Ueno Y, Zheng Y, Koike N, Aoyama S, Adachi Y & Taniguchi H, 2013. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature* 499: 481-484.

Tang Y, Wu X, Lei W, Pang L, Wan C, Shi Z, Zhao L, Nagy TR, Peng X, Hu J, Feng X, Van Hul W, Wan M & Cao X, 2009. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation. *Nat. Med.* 15: 757-765.

Titomanlio L, Kavelaars A, Dalous J, Mani S, El Ghouzzi V, Heijnen C, Baud O & Gressens P, 2011. Stem cell therapy for neonatal brain injury: perspectives and challenges. *Ann. Neurol.* 70: 698-712.

Turner NJ, Yates AJ, Weber DJ, Qureshi IR, Stolz DB, Gilbert TW & Badylak SF, 2010. Xenogeneic extracellular matrix as an inductive scaffold for regeneration of a functioning musculotendinous junction. *Tissue Engineering Part A* 16: 3309.

Twyman RM, 2005. Gene transfer to animal cells. Garland Science/BIOS Scientific Publishers. Abingdon, Oxon, UK; New York; Independence, KY.

University of California, San Francisco. Wallerian Degeneration. Verkkodokumentti. Saatavilla: http://missinglink.ucsf.edu/lm/ids_104_cns_injury/Response_to_Injury/WallerianDegeneration.htm. Viitattu 4/12/2015.

University of Utah Health Sciences. The History of Cloning Verkkodokumentti. Saatavilla: <http://learn.genetics.utah.edu/content/cloning/clonezone/>. Viitattu 4/12/2015.

Wagner W, Horn P, Castoldi M, Diehlmann A, Bork S, Saffrich R, Benes V, Blake J, Pfister S, Eckstein V & Ho AD, 2008. Replicative senescence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process. *PLoS ONE* 3: e2213.

Waltz E, 2013. Mesoblast acquires Osiris' stem cell business. *Nat Biotech* 31: 1061-1061.

Warnecke G, Moradiellos J, Tudorache I, Kühn C, Avsar M, Wiegmann B, Sommer W, Ius F, Kunze C, Gottlieb J, Varela A & Haverich A, 2012. Normothermic perfusion of do-

nor lungs for preservation and assessment with the Organ Care System Lung before bilateral transplantation: a pilot study of 12 patients. *The Lancet* 380: 1851-1858.

Watson JD, Gilman M, Witkowski J & Zoller M, 1992. *Recombinant DNA*. Scientific American Books. W.H. Freeman, New York.

Wei X, Yang X, Han ZP, Qu FF, Shao L & Shi YF, 2013. Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. *Acta Pharmacol. Sin.* 34: 747-754.

Williamson R. Ei otsikko. Saatavilla: <http://web.stanford.edu/~ashishg/robert-williamson-eutelic.html>. Viitattu 4/12/2015.

Wu J, Platero-Luengo A, Sakurai M, Sugawara A, Gil MA, Yamauchi T, Suzuki K, Bogliotti YS, Cuello C, Morales Valencia M, Okumura D, Luo J, Vilariño M, Parrilla I, Soto DA, Martinez CA, Hishida T, Sánchez-Bautista S, Martínez-Martínez M, Wang H, Nohalez A, Aizawa E, Martínez-Redondo P, Ocampo A, Reddy P, Roca J, Maga EA, Esteban CR, Berggren WT, Nuñez Delicado E, Lajara J, Guillen I, Guillen P, Campistol JM, Martínez EA, Ross PJ & Izpisua Belmonte JC, 2017. Interspecies chimerism with mammalian pluripotent stem cells. *Cell* 168: 473-486.e15.

Yagi T, Kosakai A, Ito D, Okada Y, Akamatsu W, Nihei Y, Nabetani A, Ishikawa F, Arai Y, Hirose N, Okano H & Suzuki N, 2012. Establishment of induced pluripotent stem cells from centenarians for neurodegenerative disease research. *PLoS ONE* 7: e41572.

Yang L, Güell M, Niu D, George H, Lesha E, Grishin D, Aach J, Shrock E, Xu W, Poci J, Cortazio R, Wilkinson RA, Fishman JA & Church G, 2015. Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs). *Science* 350: 1101-1104.

Ye Y, Kim CY, Miao Q & Ren X, 2016. Fusogen-assisted rapid reconstitution of anatomophysiologic continuity of the transected spinal cord. *Surgery* 160: 20-25.

Zhao T, Zhang Z, Rong Z & Xu Y, 2011. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Nature* 474: 212-215.

Zheng W, ZhuGe Q, Zhong M, Chen G, Shao B, Wang H, Mao X, Xie L & Jin K, 2013. Neurogenesis in adult human brain after traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 30: 1872-1880.

Zukor KA, Kent DT & Odelberg SJ, 2011. Meningeal cells and glia establish a permissive environment for axon regeneration after spinal cord injury in newts. *Neural Dev.* 6: 1.