

Kvėpavimo takų organoidai astmos tyrimams ir gydymo galimybėms vertinti

AIRWAY ORGANOIDS TO STUDY AND TREAT ASTHMA

ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS¹, KĘSTUTIS MALAKAUSKAS^{1,2}

¹LSMU MA Pulmonologijos klinika Pulmonologijos laboratorija, ²LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Astma yra lėtinė uždegiminė kvėpavimo takų liga, o jos biologinis heterogeniškumas lemia nevienodą atsaką į gydymą. Žmogaus organoidų platformos tampa perspektyviais eksperimentiniais modeliais, nes, palyginti su dvimatėmis ląstelių kultūromis, geriau išlaiko žmogaus genetinį foną, trimatę audinių architektūrą, ląstelių tarpusavio bei ląstelių ir mikroaplinkos sąveikas [1–3]. Organoidų technologija paremta ląstelių saviorganizacija ir kamieninių ląstelių biologija: iš suaugusiųjų arba pluripotentinių kamieninių ląstelių gaunami organoidai leidžia modeliuoti ligas, atlikti vaistų atranką ir toksiškumo vertinimą, taikyti individualizuotas strategijas iš paciento biopsijų bei prisidėti prie regeneracinės medicinos vystymosi [1, 2]. Pastaraisiais metais plaučių organoidų kūrimas sparčiai tobulėja – vis dažniau naudojamos apibrėžtos, be serumo auginamos ir mažiau nuo matrigelio priklausomos kultūros, o tai padeda gauti patikimesnius ir lengviau pakartojamus rezultatus. Tokie modeliai vis plačiau taikomi tiriant infekcijas, astmą ir LOPL, plaučių fibrozę bei plaučių vėžį [2, 3]. Organoidų auginimo sistemos apjungiamos su mikroskysčių technologija, kompleksinėmis ląstelių kultūromis, skaitmenizacija ir trimačiu spausdinimu, todėl atsiranda daugiau galimybių anksčiau pastebėti, ar numatomas gydymas bus veiksmingas, taip sumažinti nesėkmių riziką vėlyvuose klinikinių tyrimų etapuose bei parinkti tinkamesnį gydymą konkrečiam pacientui [1–3].

Reikšminiai žodžiai: astma, organoidai, gyvūnų modeliai, kamieninės ląstelės.

Summary. Asthma is a chronic inflammatory airway disease, and its biological heterogeneity leads to variable responses to treatment. Human organoid platforms are becoming promising models because, compared with conventional 2D cell cultures, they better preserve the human genetic background, three-dimensional tissue architecture, and key cell–cell and cell–microenvironment interactions [1–3]. Organoid technology is based on cellular self-organisation and stem cell biology: organoids generated from adult or pluripotent stem cells can be used to model disease, perform drug screening and toxicity testing, apply precision-medicine strategies using patient biopsies, and contribute to the development of regenerative medicine approaches [1,2]. In recent years, lung organoid generation has advanced rapidly—defined, serum-free, and less Matrigel-dependent culture conditions are increasingly used, helping to produce more reliable and reproducible results. These models are now widely applied to study infections, asthma and COPD, pulmonary fibrosis and lung cancer [2,3]. Organoid culture systems are also combined with microfluidic technology, co-cultures, digitalisation and 3D printing, creating more opportunities to detect earlier whether a predicted therapy is likely to be effective, thereby reducing the risk of failure in late-stage clinical development and supporting more appropriate treatment selection for individual patients [1–3].

Keywords: asthma, organoids, animal models, stem cells.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1960>

IVADAS

Astma yra viena labiausiai paplitusių lėtinių uždegiminių kvėpavimo takų ligų, pasižyminti dideliu klinikiu ir biologiniu heterogeniškumu: skirtingi endotipo ir fenotipo deriniai lemia nevienodą ligos eigą, paūmėjimų dažnį ir atsaką į gydymą. Nors daugeliui pacientų simptomai kontroliuojami inhaliuojamaisiais vaistais, reikšminga dalis serga sunkia arba gydymui atsparia ligos forma, todėl išlieka aiškus naujų tikslinių terapijų poreikis. Vienas esminių iššūkių kuriant naujus vaistus ir biologines terapijas yra tai, kad dalis ikiklinikinių modelių nepakankamai patikimai prognozuoja žmogaus atsaką į vaistą, o tai prisideda prie vėlyvųjų klinikinių nesėkmių ir didina vaistų kūrimo kaštus [4, 5].

Tradiciškai kvėpavimo ligų tyrimuose buvo remiamasi dvimačių ląstelių kultūromis ir gyvūniniais modeliais. Vis dėlto, dvimatės sistemos dažnai neatspindi audinių struktūros, ląstelių diferenciacijos ir mikroaplinkos signalų ypatumų, kurie yra kritiškai kvėpavimo takų barjerinei funkcijai, gleivių sekrecijai ar uždegiminių reakcijų procesams užtikrinti. Gyvūniniai modeliai padeda tirti sisteminį atsaką, bet jų vertę riboja rūšiniai genetiniai ir fiziologiniai skirtumai, taip pat ne visada atkurama žmogui būdinga ligos įvairovė. Dėl šių priežasčių pastaraisiais metais vis daugiau dėmesio skiriama žmogui specifiniams modeliams, kurie būtų ir tikslūs, ir praktiškai naudingi gydant pacientus [4–6].

Organoidai – tai saviorganizuojančios trimatės

Pulmonologija ir alergologija

struktūros, išaugintos iš suaugusiųjų kamieninių ląstelių arba pluripotentinių kamieninių ląstelių, gebančios atkurti bent dalį organui būdingos struktūros, ląstelių įvairovės ir funkcijų. Kvėpavimo sistemos tyrimuose kvėpavimo takų organoidai leidžia modeliuoti epitelio diferenciaciją, barjerines savybes ir ligos požymius, įskaitant uždegimo kelius, infekcijų eigą, paūmėjimų mechanizmus bei vaistų poveikį [4–6]. Integruojant šias sistemas su skysčių tekėjimą imituojančiomis sistemomis (imituojant kraujotaką), kompleksinių ląstelių kultūromis ir skaitmeninėmis sistemomis, galima tiksliau vertinti gydymo veiksmingumą ir saugumą žmogaus audiniui artimomis sąlygomis, taip priartinant laboratorinių tyrimų rezultatus prie klinikinės praktikos [4–6].

Šio straipsnio tikslas – apžvelgti organoidų technologijų taikymo galimybes astmos tyrimuose – nuo organoidų modelių kūrimo ir konstravimo principų iki jų panaudojimo ligos modeliavimui, vaistų atrankai ir praktiniam pritaikymui medicinoje. Taip pat aptariami svarbiausi šiuo metu organoidų taikymą ribojantys veiksniai ir tolesnės tyrimų kryptys, galinčios lemti platesnį šių žmogaus audiniams artimų modelių taikymą kvėpavimo takų ligoms tirti.

METODAI

Šis straipsnis yra apžvalginis, parengtas remiantis recenzuojama tarptautine mokslinė literatūra. Literatūros paieška atlikta „PubMed/PMC“, „Google Scholar“ ir leidėjų platformose, o atrenkant publikacijas papildomai atsižvelgta į jų indeksavimą duomenų bazėse, pavyzdžiui, „Web of Science“ ir „Scopus“. Paieškai vartoti reikšminiai žodžiai anglų kalba: „asthma“, „organoids“, „lung organoids“, „airway organoids“, „organ-on-a-chip“, „lung-on-a-chip“, „disease modeling“, „drug screening“, „toxicity“, „precision medicine“. Įtrauktos anglų kalba paskelbtos recenzuotos apžvalgos ir pirminiai moksliniai tyrimai, kuriuose nagrinėjami organoidų kūrimo principai bei jų taikymas kvėpavimo takų ligoms modeliuoti ir vaistams tirti. Neįtraukti nerenzuoti šaltiniai, su nagrinėjama tema nesusijusios publikacijos, taip pat darbai, kuriuose metodika aprašyta nepakankamai aiškiai arba kurių mokslinis pagrįstumas buvo ribotas.

VAISTŲ KŪRIMO IŠŠŪKIAI

Vaistų atradimas ir kūrimas yra ilgas, brangus ir labai rizikingas procesas, kurį sėkmingai užbaigia tik nedidelė dalis kandidatų. Įprastai šis procesas apima kelis etapus: ankstyvąją atranką ir optimizavimą, ikiklinikinius tyrimus, klinikinius tyrimus ir reguliacinį vertinimą. Nors toks modelis yra plačiai taikomas, praktikoje jis pasižymi ribotu veiksmingumu, nes daug žadančios molekulės dažnai žlunga vėlesniuose etapuose [4]. Daugiausia laiko ir rizikos tenka klini-

kinų tyrimų etapui, kuris gali trukti apie 6,5 metų, o visas vaisto kūrimo procesas nuo pradinės idėjos iki registracijos dažniausiai užtrunka 10–15 metų [5].

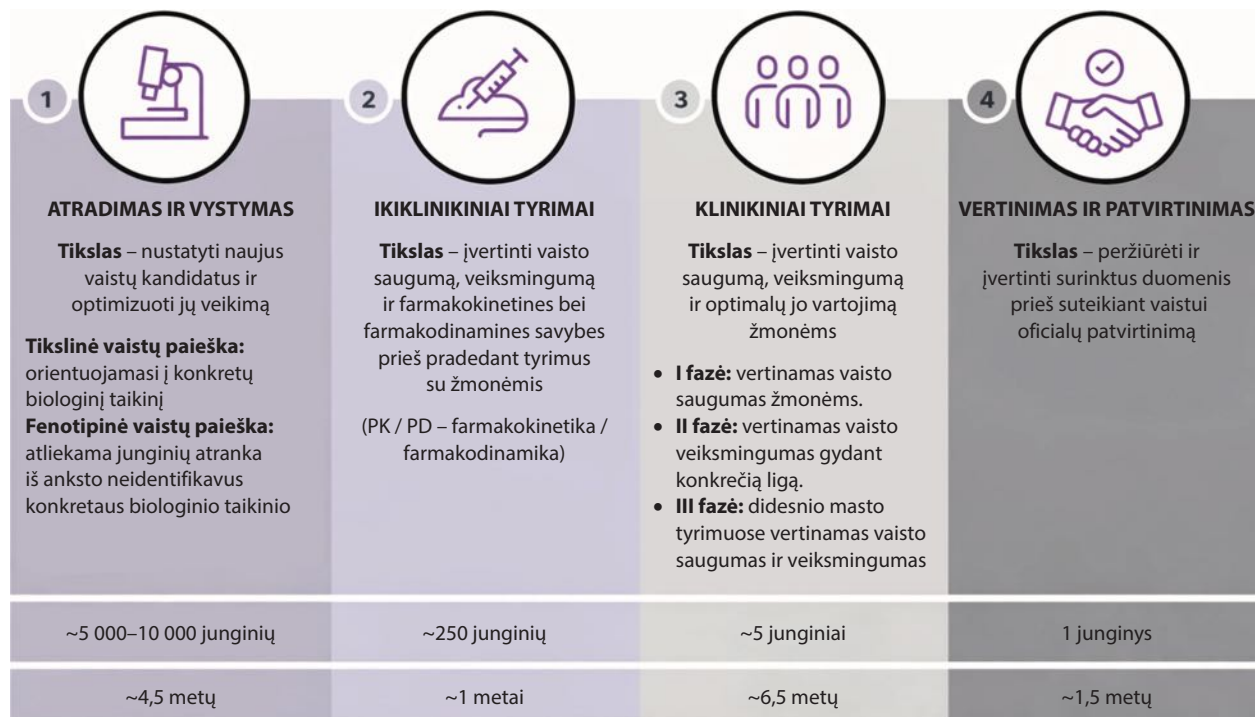
Viena svarbiausių šio proceso problemų – mažėjantis mokslinių tyrimų ir plėtos produktyvumas. Literatūroje šis reiškinys apibūdinamas vadinamuoju Eroom dėsniu: naujai patvirtinamų vaistų skaičius, tenkantis vienam investuotam milijardui JAV dolerių, ilgainiui mažėja, nepaisant technologinės pažangos ir didėjančių investicijų [6]. Kitaip tariant, didėjant finansiniams ir technologiniams ištekliams, farmacinių inovacijų grąža proporcingai nedidėja. Tai rodo ryškų neatitikimą tarp investuojamų išteklių ir pasiekiamų rezultatų.

Viena svarbiausių tokio nepakankamo produktyvumo priežasčių – atotrūkis tarp ikiklinikinių ir klinikinių tyrimų rezultatų. Nors ikiklinikiniuose modeliuose vaistų kandidatai dažnai pasižymi veiksmingumu ir priimtiniu saugumo profiliu, apie 90–92 proc. jų nepasiekia sėkmingos klinikinių tyrimų baigties [5, 7]. Ypač svarbi yra II klinikinių tyrimų fazė, kurioje vertinamas ne tik saugumas, bet ir terapinis veiksmingumas pacientams. Reikšminga dalis nesėkmių šiame etape siejama su nepakankamu veiksmingumu, o kita dalis – su saugumo problemomis [7, 8]. III fazėje viena pagrindinių nesėkmių priežasčių taip pat išlieka nepakankamas klinikinis veiksmingumas [8]. Šie duomenys rodo, kad ankstyvaisiais vaistų kūrimo etapais naudojami modeliai ne visada leidžia pakankamai tiksliai prognozuoti vaisto poveikį žmogui.

Svarbią vietą šiame kontekste užima gyvūnų modeliai, ilgą laiką laikyti vienu pagrindinių ikiklinikinių tyrimų metodų. Jie plačiai taikomi vertinant toksiškumą, farmakokinetiką, farmakodinamiką ir galimą terapinį poveikį [4]. Vis dėlto vis daugiau duomenų rodo, kad gyvūnų modelių prognostinė vertė, vertinant poveikį žmogui, yra ribota. Ikiklinikinių tyrimų rezultatai ne visada leidžia patikimai prognozuoti klinikines baigtis, o tai ypač išryškėja vertinant didelį nesėkmių dažnį vėlesniais vaistų kūrimo etapais [4, 5]. Taigi, gyvūnų modeliuose nustatytas vaisto „saugumas“ arba „veiksmingumas“ nebūtinai reiškia, kad toks pats poveikis bus nustatytas ir žmonėms.

Ši problema turi ne tik mokslinę, bet ir ekonominę reikšmę. Vieno naujo vaisto sukūrimas ir pateikimas rinkai, įskaitant nesėkmingų kandidatų kūrimo išlaidas, gali kainuoti daugiau kaip 2 mlrd. JAV dolerių [5]. Reikšminga šių išlaidų dalis patiriama dar iki klinikinių tyrimų pradžios, todėl nepakankamai tikslūs ankstyvieji modeliai gali lemti dideles investicijas į vaistų kandidatus, kurių kūrimas vėliau nutraukiamas. Be to, ilga vaisto kūrimo trukmė trumpina veiksmingos patentinės apsaugos laikotarpį ir mažina naujų vaistų komercinį potencialą [5]. Ilgėjant kūrimo procesui, didėja finansinė rizika ir mažėja tikėtina investicijų grąža.

Atsižvelgiant į šiuos trūkumus, dabartinė vaistų kūri-



1 pav. Vaisto kūrimo kelias: nuo atradimo iki registracijos (pritaikyta pagal [10])

mo paradigma vis dažniau vertinama kritiškai. Ribotas ikiklinikinių modelių prognostinis tikslumas skatina ieškoti alternatyvių metodų, kurie geriau atspindėtų žmogaus biologiją ir leistų tiksliau prognozuoti klini-
kines baigtis [4]. Vienas svarbiausių šiuolaikinio vaistų kūrimo uždavinių yra ne tik spartinti šį procesą, bet ir didinti jo patikimumą bei prognostinį tikslumą. Tai galėtų padėti sumažinti nesėkmingų klinikinių tyrimų skaičių, racionaliau panaudoti moksliniams tyrimams skiriamus išteklius ir padidinti tikimybę, kad perspektyvūs vaistų kandidatai pasieks klinikinę praktiką.

EROOM TAISYKLĖ IR RIBOTAS IKIKLINIKINIŲ MODELIŲ TIKSLUMAS

Eroom taisyklė apibūdina vieną ryškiausių šiuolaikinės farmacijos paradoksų: nepaisant didėjančių investicijų, technologinės pažangos ir augančio kuriamų molekulių skaičiaus, naujų vaistų kūrimo produktyvumas ilgainiui mažėja [6]. Kitaip tariant, vaistų kūrimas tampa ne greitesnis ir veiksmingesnis, bet vis lėtesnis, brangesnis ir rizikingesnis. Eroom taisyklė priešpriešinama Moore dėsnui: didėjant skaičiavimo galiai ir technologinėms galimybėms, farmacinių inovacijų produktyvumas juda priešinga kryptimi. Šis neatitikimas rodo, kad pagrindinė problema susijusi ne vien su technologijų ar duomenų kiekiu, bet ir su gebėjimu šias priemones pritaikyti kuriant kliniškai veiksmingus gydymo metodus.

Vienas svarbiausių šio nepakankamo produktyvumo rodiklių yra mažas klinikinės vaistų kūrimo fazės sėkmės rodiklis. Hay ir kt. atlikta didelės imties analizė

parodė, kad tik apie 10,4 proc. vaistų kūrimo programų, pasiekusių I klinikinių tyrimų fazę, galiausiai baigiasi vaisto patvirtinimu [7]. Tame pačiame tyrime nustatyta, kad sėkmingo perėjimo iš I į II fazę tikimybė siekė 64,5 proc., iš II į III fazę – 32,4 proc., o iš III fazės į registracijos paraiškos pateikimą – 60,1 proc. [7]. Taigi, II fazė yra vienas svarbiausių vaistų kūrimo etapų, kuriame nutraukiama reikšminga dalis kūrimo programų. Tai ypač svarbu Eroomo dėsnio kontekste, nes iki šio etapo nustatomo nepakankamo veiksmingumo ar kitų problemų jau būna investuota daug finansinių ir mokslinių išteklių. Vadinasi, sistema ilgą laiką investuoja į kandidatus, kurių klinikinė vertė vėliau nepasitvirtina.

Vaistų kūrimo sėkmės rodikliai skiriasi ir pagal terapinę sritį. Hay ir kt. nustatė, kad onkologijoje sėkmės rodikliai yra vieni prasčiausių: tikimybė, kad I fazę pasiekęs vaisto kandidatas galiausiai bus patvirtintas, siekė vos 6,7 proc. Be to, onkologijoje II fazės sėkmės rodiklis buvo ypač mažas, o III fazės rezultatai taip pat buvo prastesni nei daugelyje kitų terapinių sričių [7]. Šie duomenys padeda paaiškinti, kodėl farmacinių tyrimų ir plėtros programose vis daugiau dėmesio skiriama sunkioms ir biologiškai sudėtingoms ligoms, kurioms būdingas didelis nepatenkintas gydymo poreikis, tačiau kartu ir didelė vaistų kūrimo nesėkmės rizika. Didėjančios investicijos į mokslinius tyrimus ir plėtrą nebūtinai lemia proporcingą naujų patvirtintų vaistų skaičiaus augimą.

Svarbi šios problemos priežastis – atotrūkis tarp ikiklinikinių modelių ir žmogaus biologijos. Nors gyvūnų modeliai ilgą laiką laikyti svarbiu transliacinių tyrimų

Pulmonologija ir alergologija

pagrindu, vis daugiau duomenų rodo, kad jų prognostinė vertė gali būti ribota [9, 10]. Perel ir kt. sisteminėje apžvalgoje, kurioje lyginti gydymo poveikiai gyvūnų eksperimentuose ir klinikiniuose tyrimuose, nustatyta, kad gyvūnų modeliuose gauti rezultatai ne visada pasitvirtina tiriant žmones [9]. Tai rodo, kad palankūs ikiklinikinių tyrimų rezultatai nebūtinai leidžia patikimai prognozuoti klinikinę sėkmę. Pound ir kt. taip pat kėlė klausimą, kiek turima įrodymų, kad gyvūnų tyrimų rezultatai nuosekliai prisideda prie žmonių sveikatos gerinimo, ir pabrėžė kritinio metodologinio šios srities vertinimo svarbą [10].

Problema susijusi ne tik su pačiais modeliais, bet ir su jų taikymu. Ikiklinikiniai tyrimai dažnai atliekami griežtai kontroliuojamomis sąlygomis, naudojant genetiškai homogeniškas gyvūnų populiacijas ir gretutinėmis ligomis nesergančius individus, nors klinikinėje praktikoje pacientų populiacijos yra gerokai heterogeniškesnės [11]. Dėl to ikiklinikiniuose modeliuose gauti rezultatai gali pervertinti gydymo poveikį ir nepakankamai tiksliai atspindėti klinikinį atsaką. Prognostinę šių modelių vertę gali mažinti ir metodologiniai trūkumai, tokie kaip mažos imtys, nepakankamai tinkamas tiriamųjų paskirstymas, įvairūs šališkumo šaltiniai ir nepakankamas neigiamų rezultatų publikavimas [10, 11]. Dėl šių priežasčių ankstyvaisiais vaistų kūrimo etapais kandidatų perspektyvumas gali būti įvertintas pernelyg optimistiškai.

Ilgą laiką vaistų kūrimo sistema buvo orientuota pirmiausia į naujų molekulių kūrimą ir jų perkėlimą į klinikinius tyrimus, palyginti mažiau dėmesio skiriant modelių, galinčių tiksliau prognozuoti žmogaus atsaką, tobulinimui. Jei ikiklinikinės sistemos neleidžia pakankamai patikimai atskirti perspektyvių vaistų kandidatų nuo neperspektyvių, didėja vėlesnių klinikinių tyrimų nesėkmės rizika ir su ja susijusios sąnaudos. Taigi, Eroom taisyklė gali būti siejama ne tik su didėjančiais reguliaciniais reikalavimais arba sudėtingėjančiais klinikiniais tyrimais, bet ir su ribotu ikiklinikinių modelių gebėjimu prognozuoti žmogaus biologinį atsaką.

Apibendrinant, Eroom taisyklė vaistų kūrimo srityje turėtų būti suprantama kaip signalas, kad dabartinė inovacijų sistema susiduria su ribiniu produktyvumu. Mažas klinikinių tyrimų sėkmės rodiklis, ypač II fazėje, ir ribotas ikiklinikinių modelių gebėjimas prognozuoti žmogaus atsaką rodo, kad vien investicijų didinimo nepakanka [6, 7, 9]. Būtent todėl ateityje vis svarbesnis tampa ne tik naujų vaistų kandidatų kūrimas, bet ir žmogaus biologiją tiksliau atspindinčių bei didesne prognostine verte pasižyminčių ikiklinikinių modelių tobulinimas.

GYVŪNŲ NAUDOJIMO BIOMEDICININIUOSE TYRIMUOSE ISTORINĖ RAIDA

Gyvūnų naudojimo biomediciniuose tyrimuose istorija atspindi ne tik medicinos raidą, bet ir kintantį

žmogaus santykį su kitomis gyvomis būtybėmis. Kiekvienas istorinis laikotarpis pasižymi ne tik skirtingais moksliniais tikslais, bet ir skirtingu gyvūnų rūšių pasirinkimu: Antikoje ir Renesanse labiau matomi stambesni gyvūnai, tinkami anatominiams ir fiziologiniams stebėjimams, o XX–XXI a. tyrimuose išsivyravo pelės ir žiurkės, siejamos su eksperimentų standartizavimu, genetinė kontrole ir didesniu metodologiniu atkuriamumu [12, 13]. Tokia raida rodo, kad gyvūnai moksle ilgainiui iš „pažinimo priemonės“ virto standartizuotais biologiniais modeliais, o kartu stiprėjo ir etinis klausimas, ar mokslinė nauda gali pateisinti gyvūnų patiriamą žalą [12, 14].

Antikoje gyvūnai pirmiausia buvo naudojami kūno sandarai ir funkcijoms pažinti. Žmogaus kūno skrodimas ilgą laiką buvo ribojamas religinių, kultūrinių arba teisinių veiksnių, todėl anatominių žinių buvo siekiama tiriant gyvūnų kūnus. Gyvūnų įvairovė atitinka ankstyvosios medicinos pragmatiką: buvo naudojami tie gyvūnai, kurie buvo prieinami, pakankamai dideli stebėjimui arba kitaip tinkami lyginamajai anatomijai. Nors tokie tyrimai padėjo sukaupti pirmuosius sistemingesnius duomenis apie organų sandarą, rezultatų interpretaciją riboja to laikotarpio teorinės sampratos, todėl eksperimentiniai duomenys ne visada leido daryti tiksliai išvadas apie žmogaus anatomiją ir fiziologiją [12].

Viduramžiais eksperimentinės medicinos raida sulėtėjo. Medicinoje daugiausia remtasi autoritetais ir tradicija pagrįstomis žiniomis, o sisteminis fiziologinių procesų tyrimas buvo ribotas. Gyvūnų naudojimas eksperimentiniuose tyrimuose šiuo laikotarpiu buvo mažiau reikšmingas; veikiau jie išliko periferiniu pažinimo šaltiniu. Renesanso laikotarpiu vėl sustiprėjo susidomėjimas anatominiu palyginimu ir tiesioginiu stebėjimu [12].

Renesansas žymi esminį eksperimentinės medicinos raidos lūžį. A. Vesalius kritiškai įvertino antikos autorių teiginius ir parodė, kad žmogaus anatomijos negalima tiksliai aiškinti vien perkeltant kitų rūšių anatominius duomenis [12, 15]. Vis dėlto gyvūnai ir toliau buvo naudojami fiziologiniuose eksperimentuose, nes jų tyrimai leido stebėti gyvo organizmo funkcijas. Renesanso laikotarpiu gyvūnai buvo pasitelkiami ne tik anatominiams palyginimams, bet ir kraujotakai, kvėpavimui, nervų sistemos veiklai, reprodukcijai bei judėjimui tirti [12]. Kitaip tariant, gyvūnai palaipsniui tapo ne tik žmogaus anatomijos palyginimo objektu, bet ir svarbiu eksperimentinės fiziologijos modeliu.

XVII a. ir ankstyvuoju Apšvietos laikotarpiu gyvūnų naudojimas moksliniuose tyrimuose dar labiau įsitvirtino. W. Harvey darbai, skirti kraujo apytakai tirti, tapo vienu reikšmingiausių pavyzdžių, parodžiusių, kaip eksperimentai su gyvais gyvūnais gali iš esmės pakeisti supratimą apie organizmo funkcijas [16]. Šiuo laikotar-

piu gyvūnai vis dažniau buvo naudojami kaip eksperimentiniai modeliai žmogaus biologiniams procesams aiškinti. Tokį požiūrį ilgą laiką veikė antropocentrinė samprata, pagal kurią gyvūnų vertė pirmiausia buvo siejama su jų nauda žmogui. Vis dėlto XVIII a. moralinės filosofijos raida paskatino daugiau dėmesio skirti gyvūnų gebėjimui jausti skausmą ir kentėti, o tai tapo svarbiu argumentu diskusijose apie jų moralinį statusą [14, 17]. Taip palaipsniui imta vertinti ne tik gyvūnų naudą žmogui, bet ir etinius jų naudojimo aspektus.

XIX a. eksperimentinės medicinos raida gyvūnų tyrimams suteikė sistemingesnį metodologinį pagrindą. Eksperimentinė medicina tapo svarbiu metodu, taikytu siekiant nustatyti priežastinius ryšius tarp fiziologinių procesų, ligų ir galimų gydymo intervencijų [12]. Kartu vis daugiau dėmesio pradėta skirti gyvūnų gerovei ir jų patiriamai žalai. XIX a. antroje pusėje sustiprėjęs antivivisekcionistinis judėjimas paskatino visuomenines ir politines diskusijas apie gyvūnų naudojimo moksliniuose tyrimuose pagrįstumą [12, 14]. Kita vertus, būtent šiuo laikotarpiu pradėjo ryškėti ir šių tyrimų medicininė reikšmė: mikrobiologijos, vakcinologijos, antiseptikos ir infekcinių ligų tyrimų pažanga stiprino įsitikinimą, kad eksperimentai su gyvūnais gali reikšmingai prisidėti prie žmonių sveikatos gerinimo [12].

XX a. pirmoje pusėje mokslo įrodymais grindžiama

medicina dar labiau įsitvirtino. Antibiotikų, insulino, vakcinų, chemoterapijos ir kitų gydymo metodų plėtra sustiprino gyvūnų tyrimų reikšmę biomedicinoje [12]. Kartu keitėsi ir dažniausiai naudojamos gyvūnų rūšys. Ankstesniais laikotarpiais dažniau naudoti šunys, arkliai, triušiai ar varlės, o XX a. viduryje ir ypač antroje jo pusėje vis didesnę reikšmę įgijo pelės ir žiurkės. Šis pokytis siejamas su eksperimentinių sąlygų standartizavimu: mažesnius gyvūnus buvo paprasčiau ir pigiau laikyti bei veisti, jie greičiau dauginosi ir buvo tinkamesni vienodoms eksperimentinėms sąlygoms užtikrinti [13, 18]. Vėliau genetinės modifikacijos technologijų plėtra dar labiau sustiprino pelių, kaip vieno pagrindinių biomedicininio modelių, reikšmę [13].

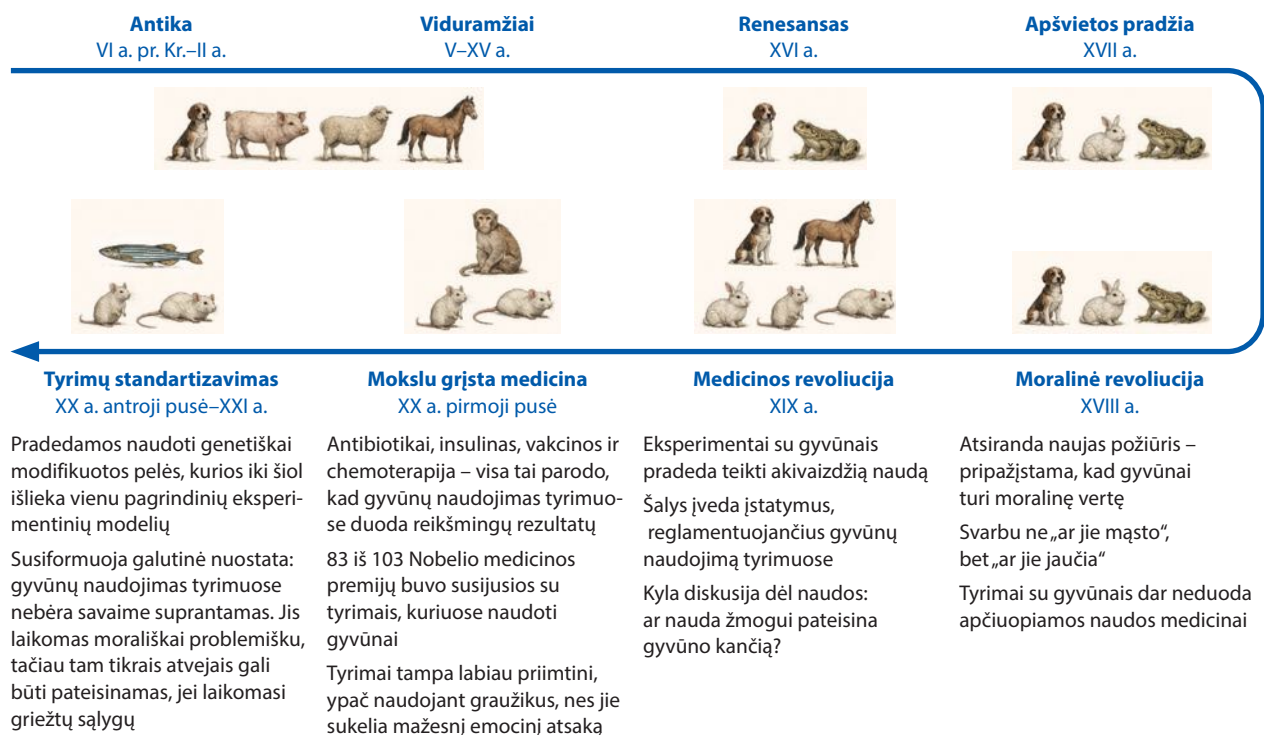
Vis dėlto XX a. antroje pusėje, ypač po 1970 m., gyvūnų naudojimas biomedicininuose tyrimuose tapo ne tik mokslinių, bet ir etinių, politinių bei reguliacinių diskusijų objektu. Šiuolaikinėse apžvalgose pabrėžiama, kad gyvūnų modeliai tebėra reikšmingi daugelyje biomedicinos sričių, tačiau jų prognostinė vertė tiriant poveikį žmogui yra ribota [13, 19]. Beck ir Meyerholz nurodo, kad nors gyvūnų modeliai yra svarbi transliacinių tyrimų dalis, jie ne visada tiksliai atspindi žmogaus ligų biologiją, klinikinį heterogeniškumą ir atsaką į gydymą [13]. Dėl to vis daugiau dėmesio skiriama metodologinėms problemoms, tokioms kaip

Vivisekcija ir disekcija taikomos kūnui pažinti
Žmogaus skrodimas – tabu

Eksperimentinė medicina beveik išnyko

Atgimsta fiziologiniai eksperimentai su gyvūnais
Gyvūnai laikomi priemone žmogaus organizmui pažinti

Ivyksta filosofinis lūžis – gyvūnai tampa kasdiene „priemone“ tyrimuose
Pateisinami net itin skausmingi eksperimentai



2 pav. Gyvūnų naudojimo biomedicininuose tyrimuose raida

Pulmonologija ir alergologija

nepakankamas tyrimų atkuriamumas, ribotas modelių gebėjimas atspindėti žmogaus ligas, publikavimo šališkumas ir laboratorinių sąlygų neatitiktis klinikinei praktikai [13, 19]. Šie veiksniai gali iš dalies paaiškinti, kodėl perspektyvūs ikiklinikinių tyrimų rezultatai ne visada pasitvirtina klinikiniuose tyrimuose.

Apibendrinant galima teigti, kad gyvūnų naudojimo biomediciniuose tyrimuose istorija atspindi ne tik mokslo pažangą, bet ir kintantį požiūrį į mokslinę atsakomybę bei etinius tyrimų aspektus. Iš pradžių gyvūnai daugiausia buvo naudojami žmogaus anatomijai ir fiziologijai pažinti, vėliau – ligų mechanizmams tirti ir gydymo metodams kurti, o šiuolaikiniame moksle jie tapo standartizuotais biologiniais modeliais. Kartu vis daugiau dėmesio skiriama jų naudojimo būtinumui, pagrįstumui ir etinei atsakomybei [12–14, 20].

GENOMINIAI ŽMONIŲ IR GYVŪNŲ PANAŠUMAI BEI JŲ REIKŠMĖ MODELIŲ PASIRINKIMUI

Vien etiniai aspektai nepaaiškina, kodėl gyvūnų modelių tyrimų rezultatai ne visada pasitvirtina klinikiniuose tyrimuose – svarbūs ir biologiniai skirtumai tarp rūšių. Skirtingų gyvūnų rūšių genetinis ir chromosominis panašumas į žmogų nevienodas, todėl skiriasi ir jų gebėjimas atspindėti žmogaus ligų mechanizmus bei vaistų poveikį. Lyginamosios genomikos duomenys rodo, kad genetiškai žmogui artimiausi yra primatai, o pelių, žiurkių, šunų, triušių ir arklių genetinis panašumas yra mažesnis. Evoliuciškai tolimesni modeliai, pavyzdžiui, zebražuvės, pasižymi mažesniu ortologinių genų ir konservuotos sintenijos lygiu. Apie 90 proc. žmogaus ir pelės genomų sekų galima priskirti konservuotos sintenijos sritims, kuriose išlaikytas toks pats arba labai panašus genų išsidėstymas chromosomose. Tai yra viena priežasčių, dėl kurių pelės tapo vienu svarbiausių eksperimentinių modelių žmogaus ligoms tirti [22]. Apie 70–71 proc. žmogaus genų turi bent vieną ortologą zebražuvės genome, todėl šis modelis ypač naudingas vystymosi biologijos ir funkcinės genetikos tyrimuose, nors kai kuriose srityse jo transliacinė vertė yra mažesnė nei žinduolių modelių [23]. Žmogaus ir didžiųjų žmogbež-

džionių genomų panašumas yra didžiausias: vidutinė žmogaus ir šimpanzės autosominių sekų divergencija siekia apie 1,27 proc. [24]. Nežmoginiai primatai kai kuriais biologiniais aspektais gali tiksliau atspindėti žmogaus organizmą, tačiau jų naudojimą reikšmingai riboja etiniai ir praktiniai veiksniai. Šie skirtumai rodo, kad gyvūnų modelio pasirinkimą lemia ne tik istorinės tradicijos arba techninis patogumas, bet ir konkrečios rūšies gebėjimas atspindėti žmogaus biologinius procesus molekuliniu, fiziologiniu ir ligų mechanizmų lygmenimis.

PAŽANGŲ MODELIAI VAISTAMS KURTI

Šiuolaikinis, pažangus biomedicinių tyrimų modelis turėtų derinti kelias iš pirmo žvilgsnio sunkiai suderinamas savybes: būti pakankamai paprastas, greitas ir ekonomiškai, bet kartu išlaikyti žmogui būdingą biologinį sudėtingumą, audinių architektūrą, ląstelių tarpusavio sąveikas ir kuo didesnę prognostinę vertę klinikiniams rezultatams [1, 13]. Toks modelis taip pat turėtų būti tinkamas ligoms modeliuoti, vaistų atrankai ir toksikologiniams tyrimams, užtikrinti pakartojamus ir standartizuojamus eksperimentus, būti etiškai priimtinesnis už gyvūnų modelius ir sudaryti sąlygas personalizuotos medicinos taikymui [1, 25]. Šiame kontekste organoidai laikomi vienais perspektyviausių šiuolaikinių modelių, nes pagal biologinį sudėtingumą užima tarpinę padėtį tarp klasikinių dvimačių ląstelių kultūrų ir sudėtingų *in vivo* sistemų [1].

Biomedicininiai modeliai gali būti suprantami kaip hierarchinė sistema, apimanti kelis biologinės organizacijos lygmenis: nuo DNR, organelių ir pavienių ląstelių iki audinių, organų, organų sistemų ir viso organizmo. Ši seka svarbi ne tik didėjančio biologinio sudėtingumo, bet ir dėl to, kad kiekvienas lygmuo leidžia tirti skirtingus biologinius procesus [1]. Molekuliniai ir ląsteliniai modeliai suteikia galimybę tiksliai analizuoti pavienius mechanizmus, tačiau dažnai nepakankamai atspindi audinių architektūrą ir fiziologinį kontekstą. Viso organizmo modeliai geriau atspindi sisteminių atsaką, tačiau yra brangūs, mažiau tinkami didelio našumo eksperimentams ir ne visada tiksliai prognozuoja žmogaus biologinius procesus [13, 19]. Organoidai šiame modelių spektre atspindi organo lygmens struktūrą: nors jie neatkuria viso organizmo, tačiau yra sudėtingesni už pavienių ląstelių ar paprastų audinių kultūras ir leidžia modeliuoti trimačius, žmogaus audiniams artimus biologinius vienetus [1, 26].

Organoidų vertę lemia gebėjimas išlaikyti ne tik organui būdingą ląstelių sudėtį, bet ir svarbias ląstelių tarpusavio bei ląstelių ir mikroaplinkos sąveikas, reikalingas ligos mechanizmams ir atsakui į gydymą modeliuoti [26]. Dėl šios priežasties organoidai jau plačiai taikomi keturiose pagrindinėse srityse: ligų modeliavimo, vaistų atrankos ir toksikologiniuose

1 lentelė. Žmogaus ir gyvūnų genomų panašumas: ortologinių genų dalis ir konservuota sintenija

	Ortologiniai genai (proc.)	Genų išsidėstymas chromosomose (proc.)
Pelės	85	90
Žiurkės	86–88	90
Triušiai	82–85	85
Primatai	93–96	95–98
Zebražuvė	70–75	70
Arkliai	80–85	85
Šunys	84–87	90

tyrimuose, individualizuotos medicinos bei regeneracinės medicinos kontekste. Juos integruojant su mikrofluidikos sistemomis, vaizdų analize, dirbtiniu intelektu, trimačiu biospausdinimu ir kelių tipų ląstelių kultūromis, galima kurti vis sudėtingesnius ir funkcionalesnius modelius, didinančius jų diagnostinę, prognostinę ir praktinio pritaikymo vertę [1, 27]. Tokios sistemos gali sudaryti sąlygas biologiniu požiūriu žmogui artimesniems, kartu standartizuojamiems ir didesnio našumo tyrimams.

Vis dėlto organoidai dar neatitinka visų idealaus eksperimentinio modelio kriterijų. Daugeliui jų trūksta kraujagyslių tinklo, imuninių komponentų ir nervinės integracijos, o jų brandos lygis ir atkuriamumas gali priklausyti nuo kultivavimo sąlygų bei naudojamos biologinės medžiagos savybių. Todėl organoidai neturėtų būti laikomi visišku kitų eksperimentinių modelių pakaitalu. Veikiau jie atspindi svarbų perėjimą prie žmogaus biologiją tiksliau imituojančių sistemų, kuriose galima išsaugoti dalį organo lygmens struktūrinio ir funkcinio sudėtingumo. Dėl to organoidai tampa vis svarbesne biomedicininio tyrimų platforma, siekiant suderinti žmogaus biologijai artimą modeliavimą, didesnę klinikinių baigčių prognozavimo galimybę ir eksperimentinį praktiškumą [1, 13, 25].

ORGANOIDAI

Organoidų ištakos ir istorinė raida

Organoidų ištakos siekia XX a. pradžią, kai H. V. Wilson parodė, jog mechanškai atskirtos kempinių ląstelės gali vėl pakartotinai susijungti, saviorganizuotis ir atkurti funkciškai vientisą struktūrą [28]. Šis eksperimentas tapo vienu ankstyviausių įrodymų, kad ląstelės, nors jų fenotipai skiriasi, turi ir išsaugo visą genetinę informaciją, o jų elgseną lemia atitinkamų genų raiška bei mikroaplinkos signalai. Vėlesnis žmogaus embrioninių kamieninių ląstelių išskyrimas [29] ir indukuotų pluripotentinių kamieninių ląstelių sukūrimas [30, 31] iš esmės pakeitė vystymosi biologiją, nes atsirado galimybė ne tik stebėti, bet ir kontroliuojamomis *in vitro* sąlygomis valdyti ląstelių diferenciaciją.

Svarbus organoidų technologijų raidos etapas buvo pasiektas 2009 m., kai Sato ir kt. parodė, kad vienos *Lgr5⁺* (angl. *leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5*, liet. leucinais pasižymintis su G baltymu susieto receptorių-5) žarnyno kamieninės ląstelės, patalpintos į tinkamą užląstelinę matricą ir aprūpintos reikiamomis signalinėmis molekulėmis, gali suformuoti saviorganizuojančias gaurelių struktūras [26]. Šis darbas parodė, kad organoidams susidaryti nepakanka vien ląstelių gebėjimo proliferuoti ir diferencijuotis – būtina ir tinkama mikroaplinka, apimanti WNT (angl. *Wingless/Int-1*) aktyvaciją, epidermio augimo faktorių, Nogino baltymą, R-spondiną bei kitus aplinkos veiksnius. Po šio įvykio organoidų tech-

nologijos pradėtos taikyti daugelio organų sistemoms modeliuoti. Per kelerius metus buvo sukurti tinklainės organoidai [32], vėliau – smegenų organoidai, leidžiantys atkurti kai kuriuos ankstyvosios žmogaus smegenų žievės raidos ypatumus [33], o tolesnė pažanga apėmė inkstų, kepenų, širdies, kraujagyslių, prostatos, sėklidžių ir kitų audinių modelius [1, 2].

Organoidams būdinga tai, kad jie saviorganizuojasi pagal audinių vystymuisi būdingas programas, išlaiko bent dalį organui būdingos struktūros, apima daugiau nei vieną ląstelių tipą ir gali atlikti dalį specializuotų funkcijų [2]. Dėl šių savybių organoidai laikomi svarbiu tarpiniu modeliu tarp paprastų dvimačių ląstelių kultūrų ir *in vivo* sistemų. Jie geriau nei klasikinės ląstelių linijos atspindi žmogaus audinių struktūrinę ir funkcinę organizaciją, tačiau išlieka lengviau kontroliuojami eksperimentinėmis sąlygomis nei gyvūnų modeliai [1, 2].

Organoidų formavimas

Organoidams kurti gali būti naudojamos skirtingos kamieninių ląstelių rūšys, gebančios formuoti trimates struktūras, atkartojančias tam tikrus atitinkamo organo vystymosi ir organizacijos ypatumus [1, 2]. Pagrindiniai ląstelių šaltiniai yra žmogaus embrioninės kamieninės ląstelės (angl. *human embryonic stem cells*, hESC), indukuotos pluripotentinės kamieninės ląstelės (angl. *induced pluripotent stem cells*, iPSC) ir suaugusiųjų kamieninės ląstelės (angl. *adult stem cells*, ASC). hESC išskiriamos iš blastocistos vidinės ląstelių masės [29], o iPSC gaunamos perprogramuojant somatines ląsteles, dažniausiai fibroblastus, į pluripotentinę būseną [30, 31]. Šios ląstelės gali būti nukreipiamos per ektodermos, mezodermos ar endodermos linijas, taip kuriant atitinkamai nervų sistemos, širdies ar inkstų, bei žarnyno, kepenų ar plaučių organoidus [1].

Iš pluripotentinių kamieninių ląstelių kuriami organoidai ypač tinkami ankstyvajai organogenezei ir vystymosi biologijai tirti. Juos formuojant nuosekliai atkuriami embrioniniam vystymuisi būdingi signalai: pirmausia indukuojami gemaliniai sluoksniai, vėliau – organui būdingi pirmtakai, o galiausiai sudaromos sąlygos trimatėms struktūroms formuotis [1, 2, 34]. Tokie modeliai gali pasižymėti gana sudėtinga ląsteline sudėtimi, apimančia epitelio, mezenchimos, o kai kuriais atvejais ir endotelio komponentus [1]. Vis dėlto jų formavimas dažnai trunka ilgai, yra jautrus protokolo sąlygoms, o susidarę organoidai neretai labiau atspindi vaisiaus ar ankstyvosios raidos, o ne subrendusio suaugusiojo audinio būklę [1, 2].

Iš suaugusiųjų kamieninių ląstelių kuriami organoidai dažniausiai gaunami iš biopsinės arba kitos audinių medžiagos ir auginami apibrėžtomis kultivavimo sąlygomis, naudojant kamieninių ląstelių nišą imituojančius signalus, tokius kaip EGF, FGF, Nogino baltymas

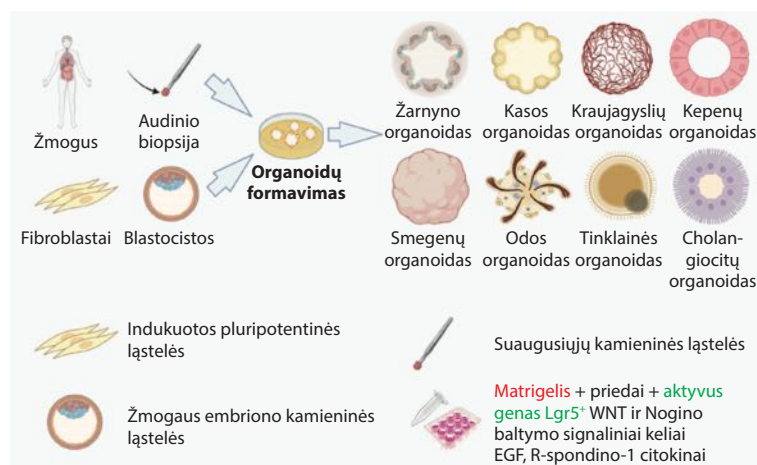
ir WNT signalinio kelio aktyvacija [1, 2, 26]. Šis metodas ypač sėkmingai taikomas žarnyno, kepenų, kasos, tulžies latakų ir kai kurių navikinių audinių modeliams kurti. ASC kilmės organoidai paprastai geriau išlaiko suaugusio audinio fenotipą ir brandos požymius, todėl yra naudingi tiriant regeneraciją, infekcijas, audinių homeostazę ir konkrečiam pacientui būdingus ligos ypatumus [1, 26].

Skirtingi organoidų šaltiniai nėra konkuruojantys, bet vienas kitą papildantys modeliai. hESC ir iPSC pagrindu sukurti organoidai ypač vertingi vystymosi procesams ir genetinėms ligoms modeliuoti, o ASC organoidai – suaugusio audinio biologijai, regeneracijai ir individualizuotos medicinos tyrimams [1, 2]. Šiuolaikinėje organoidų inžinerijoje siekiama toliau gerinti šių modelių brandą, atkuriamumą ir funkcinį vertinimą, taikant sintetines ar tiksliai apibrėžtas matricas, bioreaktorių, mikrofluidikos sistemas, kelių tipų ląstelių kultūras ir audinių inžinerijos metodus [1, 2, 35].

Organoidų panaudojimas medicinoje

Šiuo metu organoidų technologija daugiausia taikoma keturiose srityse: ligoms modeliuoti, vaistų atrankai ir toksiškumui vertinti, individualizuotos medicinos bei regeneracinės medicinos kontekste [1]. Pirmoji ir plačiausiai išplėtotą taikymo kryptis yra ligų modeliavimas. Organoidai leidžia atkurti žmogaus genetinį kodą, dalį audinio struktūros ir ligai būdingus molekulinis bei ląstelinius procesus, todėl dažnai atvejais tiksliau nei įprasti eksperimentiniai modeliai atspindi žmogaus ligų biologiją [1, 2]. Klasikinis pavyzdys – smegenų organoidų naudojimas Zikos viruso sukeltai mikrocefalijai modeliuoti. Šiuose modeliuose parodyta, kad virusas sutrikdo nervinių ląstelių pirmtakų proliferaciją ir slopina organoidų augimą [36]. Žmogaus plaučių ir žarnyno organoidai taip pat buvo naudojami SARS-CoV-2 infekcijai modeliuoti ir antivirusinių junginių atrankai [37].

Antroji svarbi taikymo kryptis – vaistų atranka ir toksiškumo vertinimas. Tai viena priežasčių, kodėl organoidai tapo tokie svarbūs transliacinėje biomedicinoje. Skirtingai nei dvimatės ląstelių kultūros, jie leidžia vertinti vaistų poveikį 3D žmogaus audinio kontekste, įskaitant ląstelių tarpusavio bei ląstelių ir aplinkos sąveikas [1, 2]. Organoidai jau taikomi nefrotoksiškumui, hepatotoksiškumui, navikinių ląstelių jautrumui vaistams ir kitiems farmakologiniams parametrams vertinti [1, 27, 35]. Tokios sistemos sudaro prielaidas didesnio našumo, ekonomiškesniems ir žmogaus biologiją tiksliau atspindintiems ikiklinikiniams tyrimams.



3 pav. Organoidų formavimas (pritaikyta pagal [1])

Trečioji sritis – individualizuota medicina. Iš paciento biopsijos ar naviko audinio sukurti organoidai gali būti naudojami individualiam atsakui į gydymą prognozuoti. Vienas ryškiausių pavyzdžių – pacientų navikų organoidai, kurių atsakas į gydymą kai kuriuose tyrimuose atitiko klinikinį atsaką ir galėjo suteikti papildomos informacijos parenkant gydymą konkrečiam pacientui [38]. Tokie modeliai leidžia ne tik vertinti vaisto veiksmingumą, bet ir tirti galimus atsparumo mechanizmus bei individualų jautrumą gydymui.

Ketvirtoji kryptis – regeneracinė medicina. Nors ši sritis dar vystoma, organoidai vertinami kaip potencialus audinių atkūrimo šaltinis. Vienas dažniausiai minimų pavyzdžių – tulžies latakų organoidų transplantacijos tyrimai, kuriuose žmogaus cholangiocitų organoidai prisidėjo prie pažeisto tulžies latakų epitelio atkūrimo [39]. Ateityje organoidų derinimas su genų redagavimu, biomedžiagų, trimačio biospausdinimo ir kraujagyslių formavimo technologijomis gali dar labiau išplėsti jų terapinio pritaikymo galimybes [1].

Plaučių organoidų raida

Per pastarąjį dešimtmetį plaučių organoidų technologijos vystėsi itin sparčiai. Pirmasis ryškus lūžis įvyko 2015 m., kai Dye ir kt. sukūrė iš žmogaus pluripotentinių kamieninių ląstelių išaugintus plaučių organoidus, atkartojančius ankstyvuosius žmogaus plaučių vystymosi etapus [40]. Netrukus šis modelis buvo patobulintas, kuriant sudėtingesnes struktūras, pasižyminčias ryškesniais kvėpavimo takų ir ankstyvojo alveolių vystymosi požymiais [41], bei gaunant tikslesnes, brandesnes ir geriau apibrėžtas plaučių struktūras [42].

Vienas svarbiausių šios srities pokyčių – perėjimas nuo bendrų, mažiau kontroliuojamų kultūros sistemų prie aiškiau apibrėžtų ir geriau atkuriamų metodų. Ilgą laiką plaučių organoidų auginimas labai priklausė nuo matrigelio ir serumo (terpės) komponentų, didinančių eksperimentų kintamumą ir ribojančių klinikinio pritaikymo galimybes [3, 43]. Todėl naujesniuose tyrimuose

vis daugiau dėmesio skiriama sintetinėms ar hidrogeiliais pagrįstoms sistemoms, kuriose nenaudojamas serumas ir matrigelis. Tokie metodai gali pagerinti tyrimų atkuriamumą, sumažinti kintamumą ir sudaryti sąlygas labiau standartizuotai organoidų gamybai [3, 43, 44].

Kartu keitėsi ir organoidams kurti naudojamų ląstelių šaltiniai. Nors iPSC pagrindu sukurti modeliai išlieka svarbūs plaučių vystymuisi tirti, vis plačiau naudojamos suaugusiųjų kamieninės ir vaisiaus kilmės ląstelės [3, 44]. Šie modeliai leidžia tiksliau atspindėti konkrečias kvėpavimo takų sritis, sukurti alveolinius, kvėpavimo takų ar bronchų architektūrą labiau imituojančius organoidus ir taikyti juos ne tik vystymosi biologijos, bet ir infekcijų, intersticinių plaučių ligų bei įgimtų patologijų tyrimams [3, 43, 44]. Vis dėlto dabartinėse plaučių organoidų sistemose kraujagyslių, nervų ir imuninės sistemos komponentų integracija tebėra ribota [3].

Plaučių organoidų ir „plaučių mikroschemoje“ modeliai kvėpavimo ligų tyrimuose

Plaučių organoidai ir „plaučiai mikroschemoje“ (angl. *lung-on-a-chip*) modeliai tampa vis svarbesniais įrankiais kvėpavimo ligoms tirti, nes, palyginti su dvimatėmis ląstelių kultūromis ir kai kuriais gyvūnų modeliais, leidžia tiksliau atkurti žmogaus plaučių trimatę mikroaplinką, ląstelių įvairovę ir dinaminį atsaką į mechaninius bei uždegiminius dirgiklius [3, 45]. Ypač svarbu tai, kad šios platformos leidžia modeliuoti ne vien epitelio būseną, bet ir gleivių sekreciją, blakstienėlių funkciją, alveolinio barjero vientisumą, imuninės sistemos ląstelių migraciją ir net kvėpavimo judesius, kai naudojamos mikroscheminės sistemos [3, 45, 46].

Kvėpavimo takų infekcijų tyrimuose šių modelių reikšmė ypač išryškėjo per COVID-19 pandemiją. Plaučių organoidai suteikė galimybę tirti SARS-CoV-2 infekciją alveolinėse ląstelėse, uždegiminių signalinių kelių aktyvaciją ir epitelio vientisumo pažeidimą [3, 37]. „Plaučiai mikroschemoje“ platformos papildė šiuos modelius, nes leido tirti dinaminį epitelio ir endotelio barjero pokyčius, viruso sukeltą kraujagyslių disfunkciją bei mechaninių jėgų įtaką infekcijos eigai [3, 45]. Taigi, organoidai suteikia galimybę išsamiau tirti audinio biologiją, o mikroscheminės sistemos – papildomai modeliuoti fiziologinę dinamiką.

Astmos ir LOPL tyrimuose „plaučių mikroschemoje“ modeliai leidžia tirti IL-13 sukeltą gleivių hiperprodukciją, epitelio remodeliaciją, blakstienėlių funkcijos sutrikimą ir virusų sukeltus ligos paūmėjimus [46, 47]. Šios sistemos gali būti naudojamos ne tik ligos mechanizms tirti, bet ir priešuždegiminių bei bronchus plečiančių vaistų poveikiui vertinti. Plaučių organoidai savo ruožtu padeda tirti epitelio pirmtakų nišas, alveolių regeneracijos mechanizmus ir ligos heterogeniškumą, todėl šios platformos viena kitą papildo [3, 45]. Plaučių fibrozės tyrimuose organoidai

leidžia modeliuoti svarbiausius patologinius procesus, pavyzdžiui, transformuojančio augimo faktoriaus β sukeltą fibroblastų aktyvaciją, užląstelinės matricos kaupimąsi ir audinio standėjimą [3, 48]. Naujesniuose modeliuose integruojami ir stromos bei imuninės sistemos komponentai, todėl galima tirti fibrozinių ir uždegiminių procesų sąveiką. Plaučių vėžio tyrimuose iš pacientų navikų sukurti organoidai gali išlaikyti dalį naviko heterogeniškumo, todėl jie taikomi atsparumo vaistams mechanizms tirti ir individualiam atsakui į gydymą vertinti [3, 49]. Daugelio organų mikroscheminės sistemos taip pat suteikia galimybę tirti metastazavimo procesus ir sisteminį vaistų toksiskumą.

Apibendrinant galima teigti, kad plaučių organoidai ir „plaučiai mikroschemoje“ modeliai reikšmingai papildo šiuolaikinius kvėpavimo ligų tyrimo metodus. Jie leidžia tiksliau modeliuoti žmogaus plaučių biologinius procesus, vertinti vaistų poveikį ir kurti pacientui artimesnes eksperimentines sistemas. Ateityje šių technologijų plėtra gali prisidėti prie individualaus atsako į gydymą prognozavimo ir personalizuotų gydymo strategijų kūrimo [3, 37, 45].

IŠVADOS

Platesnis organoidų ir „plaučių mikroschemoje“ technologijų taikymas rodo aiškų kvėpavimo ligų tyrimų kryptį – pereinama nuo supaprastintų dvimačių ląstelių kultūrų prie žmogaus biologijai artimesnių trimačių sistemų, leidžiančių ligos mechanizmus tirti sudėtingesniame audinių kontekste. Organoidai ypač vertingi tuo, kad išlaiko trimatę struktūrą ir dalį organui būdingų ląstelių tarpusavio sąveikų, todėl leidžia vertinti ne tik atskirus signalinius kelius, bet ir jų bendrą poveikį epitelio homeostazei, regeneracijai bei uždegiminiams procesams. Sparčiai kuriamos tiksliai apibrėžtos, specifinio serumo nenaudojančios ir nuo matrigelio nepriklausomos kultūros didina rezultatų atkuriamumą ir praktinio pritaikymo galimybes. Naudojant paciento audinius, šios platformos tampa pagrindu individualizuotai medicinai, vertinant individualų atsaką į gydymą dar prieš jo skyrimą pacientui. Ilgainiui organoidų modeliai gali padėti sumažinti vėlyvųjų vaistų kūrimo etapų nesėkmių riziką, nes vaistų kandidatai būtų vertinami žmogaus biologiją tiksliau atspindinčiose sistemose. Vis dėlto, kad organoidai galėtų būti plačiau taikomi kasdienėje praktikoje, būtina standartizuoti jų kokybės vertinimo kriterijus ir užtikrinti rezultatų palyginamumą tarp laboratorijų. Ne mažiau svarbus žingsnis – sistemingas validavimas, siejant organoidų rodiklius su realiomis klinikinėmis baigtimis. Tolesnė šių technologijų plėtra gali prisidėti prie patikimesnių ir žmogaus biologiją tiksliau atspindinčių ikiklinikinių sistemų kūrimo bei platesnio jų taikymo kvėpavimo ligų mechanizms tirti ir naujiems gydymo metodams kurti.

LITERATŪRA

1. Yao Q, Cheng S, Pan Q, Yu J, Cao G, Li L, Cao H. Organoids: development and applications in disease models, drug discovery, precision medicine, and regenerative medicine. *MedComm* (2020). 2024;5(10):e735.
2. Lancaster MA, Huch M. Disease modelling in human organoids. *Dis Model Mech*. 2019;12:dmm039347.
3. Zhang X, Liu H, Cheng H, Cui Y, Wang J, Yao Q, et al. In vitro biomimetic models for respiratory diseases: progress in lung organoids and lung-on-a-chip. *Stem Cell Res Ther*. 2025;16(1):415.
4. Singh VK, Seed TM. How necessary are animal models for modern drug discovery? *Expert Opin Drug Discov*. 2021;16:1391–7.
5. Sun D, Gao W, Hu H, Zhou S. Why 90% of clinical drug development fails and how to improve it? *Acta Pharm Sin B*. 2022;12(7):3049–62.
6. Scannell JW, Blanckley A, Boldon H, Warrington B. Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(3):191–200.
7. Hay M, Thomas DW, Craighead JL, Economides C, Rosenthal J. Clinical development success rates for investigational drugs. *Nat Biotechnol*. 2014;32(1):40–51.
8. Harrison RK. Phase II and phase III failures: 2013–2015. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;15:817–8.
9. Perel P, Roberts I, Sena E, Wheble P, Briscoe C, Sandercock P, et al. Comparison of treatment effects between animal experiments and clinical trials: systematic review. *BMJ*. 2007;334(7586):197.
10. Pound P, Ebrahim S, Sandercock P, Bracken MB, Roberts I. Where is the evidence that animal research benefits humans? *BMJ*. 2004;328:514–7.
11. Hackam DG, Redelmeier DA. Translation of research evidence from animals to humans. *JAMA*. 2006;296:1731–2.
12. Franco NH. Animal experiments in biomedical research: a historical perspective. *Animals* (Basel). 2013;3(1):238–73.
13. Beck AP, Meyerholz DK. Evolving challenges to model human diseases for translational research. *Cell Tissue Res*. 2020;379:449–63.
14. Kiani AK, Pheby D, Henahan G, Brown R, Sieving P, Sykora P, et al. Ethical considerations regarding animal experimentation. *J Prev Med Hyg*. 2022;63(3):E255–66.
15. Ericsson AC, Crim MJ, Franklin CL. A brief history of animal modeling. *Mo Med*. 2013;110(3):201–5.
16. Harvey W. Classic pages in obstetrics and gynecology. *Exercitatio anatomica de motu cordis et sanguinis in animalibus*. *Am J Obstet Gynecol*. 1975;121(7):1007.
17. Ormandy EH, Schuppli CA. Public attitudes toward animal research: a review. *Animals* (Basel). 2014;4(3):391–408.
18. Rosenthal N, Brown S. The mouse ascending: perspectives for human-disease models. *Cell*. 2007;128(4):631–3.
19. Mak IW, Evaniew N, Ghert M. Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment. *Am J Transl Res*. 2014;6(2):114–8.
20. Lauwereyns J, Bajramovic J, Bert B, Camenzind S, De Kock J, Elezović A, et al. Toward a common interpretation of the 3Rs principles in laboratory animal research. *Lab Anim*. 2024;53:233–40.
21. Louis-Maerten E, Milford A, Shaw DM, Geneviève LD, Elger BS. Perceptions of 3R implementation in European animal research: a systematic review. *PLOS ONE*. 2024;19(3):e0300031.
22. Breschi A, Gingeras TR, Guigó R. Comparative transcriptomics in human and mouse. *Nat Rev Genet*. 2017;18(7):425–40.
23. Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*. 2013;496(7446):498–503.
24. Kronenberg ZN, Fiddes IT, Gordon D, Murali S, Cantsilieris S, Meyerson OS, et al. High-resolution comparative analysis of great ape genomes. *Science*. 2018;360(6393):eaar6343.
25. Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science*. 2014;345:1247125.
26. Sato T, Vries RG, Snippert HJ, van de Wetering M, Barker N, Stange DE, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature*. 2009;459:262–5.
27. Lawlor KT, Vanslambrouck JM, Higgins JW, Chambon A, Bishard K, Arndt D, et al. Cellular extrusion bioprinting improves kidney organoid reproducibility and conformation. *Nat Mater*. 2021;20:260–71.
28. Wilson HV. On some phenomena of coalescence and regeneration in sponges. *J Exp Zool*. 1907;5:245–58.
29. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282:1145–7.
30. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126:663–76.
31. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861–72.
32. Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, Kawada M, Sakakura E, Okuda S, et al. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature*. 2011;472(7341):51–6.
33. Lancaster MA, Renner M, Martin CA, Wenzel D, Bicknell LS, Hurles ME, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*. 2013;501(7467):373–9.
34. Spence JR, Mayhew CN, Rankin SA, Kuhar ME, Vallance JE, Tolle K, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro. *Nature*. 2011;470:105–9.
35. Huh D, Hamilton GA, Ingber DE. From 3D cell culture to organs-on-chips. *Trends Cell Biol*. 2011;21:745–54.
36. Qian X, Nguyen HN, Song MM, Hadjion C, Ogden SC, Hammack C, et al. Brain-region-specific organoids using mini-bioreactors for modeling ZIKV exposure. *Cell*. 2016;165:1238–54.
37. Han Y, Duan X, Yang L, Nilsson-Payant BE, Wang P, Duan F, et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids. *Nature*. 2021;589:270–5.
38. Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernández-Mateos J, Khan K, Lampis A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*. 2018;359:920–6.
39. Sampaziotis F, Muraro D, Tysoe OC, Sawiak S, Beach TE, Godfrey EM, et al. Cholangiocyte organoids can repair bile ducts after transplantation in the human liver. *Science*. 2021;371:839–46.
40. Dye BR, Hill DR, Ferguson MA, Tsai YH, Nagy MS, Dyal R, et al. In vitro generation of human pluripotent stem cell derived lung organoids. *eLife*. 2015;4:e05098.
41. Chen YW, Huang SX, de Carvalho ALRT, Ho SH, Islam MN, Volpi S, et al. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells. *Nat Cell Biol*. 2017;19:542–9.
42. Miller AJ, Dye BR, Ferrer-Torres D, Hill DR, Overeem AW, Shea LD, et al. Generation of lung organoids from human pluripotent stem cells in vitro. *Nat Protoc*. 2019;14:518–40.
43. Loebel C, Weiner AI, Eiken MK, Katzen JB, Morley MP, Bala V, et al. Microstructured hydrogels to guide self-assembly and function of lung alveolospheres. *Adv Mater*. 2022;34:e2202992.
44. Budeus B, Kroepel C, Stasch LM, Klein D. Matrix-free human lung organoids derived from induced pluripotent stem cells to model lung injury. *Stem Cell Res Ther*. 2024;15:468.
45. Benam KH, Villenave R, Lucchesi C, Varone A, Hubeau C, Lee HH, et al. Small airway-on-a-chip enables analysis of human lung inflammation and drug responses in vitro. *Nat Methods*. 2016;13:151–7.
46. Nawroth JC, Lucchesi C, Cheng D, Shukla A, Nguyen J, Shroff T, et al. A microengineered airway lung chip models key features of viral-induced exacerbation of asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2020;63:591–600.
47. Tan Q, Choi KM, Sicard D, Tschumperlin DJ. Human airway organoid engineering as a step toward lung regeneration and disease modeling. *Biomaterials*. 2017;113:118–32.
48. Strikoudis A, Cieślak A, Loffredo L, Chen YW, Patel N, Saqi A, et al. Modeling of fibrotic lung disease using 3D organoids derived from human pluripotent stem cells. *Cell Rep*. 2019;27:3709–23.e5.
49. Kim M, Mun H, Sung CO, Cho EJ, Jeon HJ, Chun SM, et al. Patient-derived lung cancer organoids as in vitro cancer models for therapeutic screening. *Nat Commun*. 2019;10:3991.