

межклеточную коммуникацию и способных регулировать морфофункциональное состояние клеток. Одними из таких паракринных регуляторных компонентов стволовых клеток являются секретлируемые ими внеклеточные везикулы, представляющие собой мембранные замкнутые цитоплазматические фрагменты и содержащие различный набор белков, липидов, нуклеиновых кислот. Сопоставление компонентов везикул и самих стволовых клеток может указывать на регуляторный аспект паракринной функции клеток.

В данной работе мы сопоставили наличие ряда ключевых характеристических факторов в эмбриональных стволовых клетках человека (ЭСК) и во внеклеточных везикулах, полученных в ходе их культивирования.

В работе были использованы ЭСК человека линии hES-MKO5 любезно предоставленные чл.-корр. РАН, д.б.н. М.А. Лагарьковой (ФНКЦ ФХМ ФМБА). Клетки культивировали по стандартной методике, используя в качестве подложки матригель. Внеклеточные везикулы выделяли из среды культивирования ЭСК методом последовательного центрифугирования и ультрацентрифугирования по стандартной методике. Концентрация везикул составляла в среднем $4,6 \times 10^{11}$ част./мл, 80% детектируемых частиц лежат в диапазоне размеров от 50 до 200 нм, что свидетельствует о присутствии в препаратах как экзосом, так и микровезикул. Результаты просвечивающей электронной микроскопии подтверждают наличие частиц, по морфологии соответствующих везикулам. Проведенный нами молекулярно-генетический анализ (метод ПЦР в реальном времени) показал наличие мРНК генов — основных маркеров плюрипотентности (Oct4, Sox2, Nanog, Lin 28) в самих ЭСК человека линии hES-MKO5 и в их внеклеточных везикулах.

Таким образом, выявленная идентичность паракринного компонента ЭСК может указывать на то, что при сохранении плюрипотентного статуса клеток межклеточные коммуникации направлены на поддержание плюрипотентности.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ГАРМОНИЗАЦИИ И РАЗВИТИЯ ТЕРМИНОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ОБЛАСТИ БИМЕДИЦИНЫ

Елизавета Рафаэлевна Сурина, Жанна Алексеевна Акопян, Ляля Адыгамовна Габбасова
МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

ESurina@mc.msu.ru

Биомедицина, возникшая на стыке фундаментальных, преимущественно естественных наук, определяет новое направление в развитии медицины высоких технологий. Принятие Конвенции о защите прав и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины («Конвенции Овьедо») в 1997 году можно считать началом эпохи биомедицины. Количество публикаций в этой области с каждым годом значительно возрастает, и на данный момент составляет уже около 50000 источников по базе данных PubMed. Тем не менее, вопросы гармонизации и развития общих и специальных терминов, применяемых в области биомедицины, остаются актуальными.

Нами был проведен анализ ряда ключевых международных и российских законов и нормативных актов в области биоэтики и биомедицины, а также ряд руководств, рекомендаций, учебников, справочных изданий (глоссариев) и научных статей. Было определено современное состояние российского и международного

законодательства в области биомедицины, и разработан алгоритм формирования понятийного аппарата в области биомедицины. В результате были выделены термины, связанные с биоэтикой и биомедициной, в виде понятий и устойчивых выражений. Был сделан перевод англоязычных терминов с учётом сложившейся практики их применения в научных публикациях, для каждого термина было найдено определение и подготовлена сопроводительная статья. На основании собранного материала было составлено справочное издание — «Справочник международных терминов, применяемых в области биомедицины», содержащий как русско-английскую часть с толкованиями, так и англо-русский терминологический словарь. Данный справочник (глоссарий) может быть использован как при работе со специальной литературой, так и в качестве самостоятельного руководства по биомедицине.

Выполнено в рамках государственно-го задания Московского университета (ЦИТИС АААА-А16-116122810207-1).

ХАРАКТЕРИСТИКА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЛИМБА ЧЕЛОВЕКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ И УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Мария Александровна Суровцева¹, Игорь Алексеевич Исаков², Ольга Владимировна Повещенко¹, Александр Петрович Лыков¹, Ирина Иннокентьевна Ким¹, Евгения Викторовна Янкайте¹, Наталья Анатольевна Бондаренко¹, Наталья Петровна Бгатова¹, Александр Николаевич Трунов², Валерий Вячеславович Черных²

¹ НИИКЭЛ — филиал Института цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

² МНТК «Микрохирургия глаза» им. С.Н. Федорова Минздрава России, Новосибирский филиал, Новосибирск, Россия;

mfelde@ngs.ru

Лимб является нишей стволовых клеток роговицы и содержит как эпителиальные (LESCs), так и стромальные стволовые клетки (CSCCs). Поиск новых оптимальных условий выделения и культивирования стволовых клеток лимба является базой для создания новых клеточных продуктов, используемых в лечении дефицита лимбальных стволовых клеток.

Цель работы: характеристика стволовых клеток лимба при различных методах выделения и культивирования. Лимбальные стволовые клетки получали из области лимба энуклеированных по плановым медицинским показаниям глаз. Лимбальный графт отмывали, измельчали. Выделение клеток производили двумя методами: ферментативным и эксплантом. При ферментативном методе выделения клеток, лимб обрабатывали 0,05% раствором коллагеназы. Клетки культивировали в стандартных условиях в полной среде DMEM/F12. После третьего пассажа проводили фенотипирование клеток и дифференцировку в адипогенном и остеогенном направлениях. При выделении клеток лимба методом экспланта в качестве фидера использовали силиковысушенную амниотическую мембрану (AM). Фрагменты лимба на AM культивировали в стандартных условиях в полной среде CECBM (Corneal Epithelial Cell Basal Medium). После закрытия большей части поверхности AM, адгезированные клетки снимали и фенотипировали. Морфологию клеток оценивали

с помощью микроскопов Axio Observer и электронного. Фенотип клеток определяли на проточном цитофлуориметре. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы «Statistica 10,0». Полученная ферментативным методом культура первые сутки отличалась гетерогенностью клеток. К 2–3 пассажу культура была представлена, преимущественно, фибробластоподобными клетками. Данные клетки обладали способностью к цитодифференцировке в адипогенном и остеогенном направлениях, большинство клеток экспрессировали маркеры ММСК (CD90⁺/CD73⁺/CD105⁺/CD34⁻/CD45⁻) и меньшее количество — маркеры эпителиальных клеток. При выделении клеток методом экспланта на 3–5 сутки были отмечены очаги миграции клеток. Клетки первичной культуры имели эпителиоподобную форму, хорошо адгезировались к поверхности АМ, экспрессировали маркеры эпителиальных клеток (CK19⁺/p63α⁺/ABCG₂⁺) и не несли маркеров ММСК. По данным электронной микроскопии клетки формировали 4–5 слоев на поверхности АМ. Таким образом, на основании морфологии клеток, результатов фенотипирования и цитодифференцировки, можно сделать заключение, что клетки, выделенные ферментативным методом, являются преимущественно CSSCs, а методом экспланта — LSCs.

СТРАТЕГИЧЕСКИЕ И ТАКТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ РАЗРАБОТКИ, ПРОИЗВОДСТВА, МАРКЕТИНГА И ПРИМЕНЕНИЯ БИМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ В РОССИИ

Юрий Владимирович Суханов¹, Павел Михайлович Соколов², Игорь Михайлович Абашин³

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² ЗАО Акрус, Москва, Россия;

³ ООО Акрус БиоМед, Москва, Россия

yuri.sukhanov@gmail.com

Выбор актуальных для медицины и имеющих в то же время рыночный потенциал биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) для потенциального производителя представляет серьезную проблему. В медицинском и социальном аспекте, наиболее интересны БМКП для лечения онкологических заболеваний (доля в общем числе клинических исследований клеточных продуктов почти 50%), сердечно-сосудистых заболеваний (11%), критических состояний (9%), дисфункций ЦНС (8%), коррекции диабета (5%) и восстановления кожных покровов (5%). Однако нужно принимать во внимание и реализуемость, достаточную технологическую зрелость разработок — в этом отношении показателем перечень разрешенных для клинического применения клеточных продуктов: половина из них предназначена для лечения повреждений кожных покровов и для применения в травматологии и ортопедии. Хотя рынок средств лечения хронических ран (в т.ч. ожогов) достаточно развит и насыщен, он достаточно динамичен. Консорциум в составе ИБР РАН им. Н.К. Кольцова, МГУ им. М.И. Ломоносова, ПИМУ и ЗАО Акрус с 2017 года осуществляют проект создания промышленного производства БМКП. За два с небольшим года проведены доклинические исследования двух эквивалентов кожи, разработана все технологическая, медицинская и нормативная документация, необходимая для подачи заявления на государственную регистрацию, спроектирована и строится производственная площадка, проведена подготовка к началу

КИ 1 и 2 фаз. Доклинические исследования, проведенные в полном объеме, требуемом 180 ФЗ и «ГТР», обнаружили, вместе с тем, при хороших результатах, проблемы, связанные с неполной адекватностью моделирования заболеваний на животных, принципами «дозирования» БМКП. Основным вопросом при разработке протокола КИ БМКП является вопрос о выборе «препарата сравнения» и сопряжения дизайна с доклиническими исследованиями. Основным риском КИ является не получение доказательств значительно большей эффективности БМКП, при экономической приемлемости вероятной разницы в цене. Важным аспектом является и организация логистики таким образом, чтобы такой недостаток БМКП, как короткий срок годности, компенсировался его эффективностью, простотой применения, большими безопасностью и комфортом для пациента.

В рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития но-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» по теме «Разработка технологии производства, хранения и применения биомедицинских клеточных продуктов для лечения ран» СОГЛАСЕНИЕ № 14.610.21.0012 УИР RFMEFI61017X0012.

ТЕЛОЦИТЫ — ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫЕ СТЕВЛОВЫЕ КЛЕТКИ МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Татьяна Владимировна Сухачева¹, Наталья Викторовна Низяева², Мария Викторовна Самсонова³, Андрей Львович Черняев³, Александр Иванович Щеголев², Роман Андреевич Серов¹

¹ ФГБУ «НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им А.Н. Бакулева» Минздрава России, Москва, Россия;

² ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия;

³ ФГБУ «НИИ Пульмонологии» ФМБА России, Москва, Россия

tatiana@box.ru

Телоциты (ТЦ) — интерстициальные стволовые клетки мезенхимального происхождения, характерным морфологическим признаком которых являются тонкие протяженные отростки.

Цель исследования: выявить ТЦ в миокарде желудочков детей, определить их ультраструктурные и иммуногистохимические особенности.

Материалы и методы. На ультраструктурном уровне проанализированы биоптаты миокарда правого желудочка 42 детей с тетрадой Фалло (3–33 мес.). Содержание ТЦ определено на ультратонких срезах (×4800) с использованием полуквантитативной 6-балльной шкалы. Для иммуногистохимического исследования использованы моноклональные антитела к С-kit, CD34, CD44, виментину. Выявлены маркеры пролиферации и кардиомиогенной дифференцировки Ki67 и саркомерный α-актин. Результаты проанализированы с использованием методов непараметрической статистики (коэффициент Спирмена).

Результаты. ТЦ миокарда детей формируют сеть вокруг кардиомиоцитов, мелких и крупных интрамуральных сосудов, нервных волокон. Диаметр ТЦ на уровне ядра составляет 1,2–5,0 мкм, диаметр отростков ТЦ — около 0,1 мкм с локальными расширениями до 0,21–1,17 мкм.