



**НАЦИОНАЛЬНОЕ
ОБЩЕСТВО
РЕГЕНЕРАТИВНОЙ
МЕДИЦИНЫ**

- Министерство здравоохранения Российской Федерации
- Национальное общество регенеративной медицины
- ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ

2

НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС

**ПО РЕГЕНЕРАТИВНОЙ
МЕДИЦИНЕ**

**МАТЕРИАЛЫ
КОНГРЕССА**

Москва
3–5 декабря, 2015

2-й Национальный Конгресс по регенеративной медицине

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА

М., 2015 – с. 241

3–5 декабря 2015 года

г. Москва

ISBN 978-5-906484-23-9

© «МЕДИ Экспо», 2015



ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННОГО КОЖНОГО ЛОСКУТА

АБДРАХМАНОВА С.А., БАЛТАБАЕВА Т.С., ОСПАНОВА М.Е.,
КАРИМОВ Г.М., БУРКИТБАЕВ Ж.К.

Актуальность. Развитие заболеваний (аутоиммунных болезней, реакции «трансплантат против хозяина» и др.) ассоциировано с функциональной активностью иммунокомпетентных клеток и цитокинов. Системный ответ на локальное воспаление, зависит от характера взаимодействия про- и противовоспалительных цитокинов.

Цель. Изучение баланса между про- и противовоспалительными цитокинами в динамике трансплантации аллогенного кожного лоскута (КЛ) и моноклеарной фракции клеток костного мозга (МНК КМ).

Материалы и методы. Исследования проведены на крысах породы Wistar. Пересадку аллогенного КЛ осуществляли путем перекрестной трансплантации. 1-я группа (контроль) – 10 животных, где проведена трансплантация КЛ; 2-я группа – 10 животных, после трансплантации КЛ+МНК КМ. Уровень TNF α , INF γ , IL4, TGF β в сыворотке крови животных определяли методом ИФА (Вектор-БЕСТ). Обработку результатов проводили, используя критерий t-Стьюдента.

Результаты. Исследования показали, что уже на 2 сутки после трансплантации КЛ содержание INF γ , TNF α в сыворотке крови животных заметно увеличилось в 1,5–2 раза по сравнению с показателями крыс, где проводили введение МНК КМ. В динамике приживления КЛ содержание IL-1 β , TNF α и INF γ на 4 сутки составил 132 $\pm$ 17 пг/мл, 168 $\pm$ 14 пг/мл, 390 $\pm$ 32 пг/мл соответственно ($p < 0,001$). Уровень IL-4 на 4 сутки составила 56 $\pm$ 4,8 пг/мл. У 65% крыс с явлениями некроза и отторжением КЛ отмечена высокая концентрация TNF α (176 $\pm$ 18 пг/мл).

Гистологические исследования трансплантата показали, что во 2 группе имели место менее выраженные деструктивно-некротические процессы трансплантата, чем в 1 группе. Уровень TNF α и INF γ на 6 день эксперимента составил 89 $\pm$ 10,14 пг/мл и 121 $\pm$ 27 пг/мл соотв., что намного выше, чем во 2 гр.с МНК ($p < 0,001$). IL-4 был выше ($p < 0,0001$), чем в 1 группе (283 $\pm$ 26,45 пг/мл и 4,70 $\pm$ 0,91 пг/мл соотв.). Уровень TGF β – 81 $\pm$ 13,03 пг/мл, по сравнению с 1 группой (11,2 $\pm$ 0,29 пг/мл) ($p < 0,0001$).

Заключение. У крыс в динамике приживления трансплантата выявлен цитокиновый дисбаланс, резкое увеличение провоспалительных цитокинов в группе без МНК КМ, и увеличением уровня IL-4, IL-10 при применении МНК КМ.



НАНОВОЛОКОННЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ БИОИМПЛАНТЫ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ СУХОЖИЛИЙ, ПОЛУЧЕННЫЕ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЯ

АББАСОВ Т.А.¹, ГОРБАЧЕВ Д.П.^{2,3}, ФАДЕЕВА И.С.^{2,3}, СЕНТОВ А.С.²,
ФАДЕЕВ Р.С.^{2,3}, ФЕСЕНКО Н.И.³, ОЛЬХОВ А.А.⁴, ГУРЬЕВ В.В.¹,
АКАТОВ В.С.^{2,3}

1 – ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, ул. Делегатская, 20–1;

2 – ФГБУН ИТЭБ РАН, Пушкино, Институтская, 3;

3 – ФГБОУ ВПО «ПушГЕНИ», Пушкино, Проспект Науки, 3;

4 – ФГБУН ИХФ РАН им. Н.Н. Семёнова, Москва, Косыгина, 4

Известно, что для современной реконструктивной хирургии сухожильно-связочного аппарата человека разработка эффективных и действительно функциональных заменителей является одной из самых востребованных и актуальных задач.

Целью данной работы являлось изучение эффективности и степени функциональности нановолоконного биоимпланта ахиллова сухожилия на опорных нитях, полученного в соответствии с авторской технологией (Патент РФ №2561830).

В работе использовали авторскую методику получения ориентированных нано- и микроволоконных материалов, полученных методом электроформования поли-3-гидроксibuтирата (460 кДа). В качестве модельной тест-системы использовали метод тотального дефекта ахиллова сухожилия самцов крыс линии Wistar (масса 200 гр., 10 повторов). В качестве контроля была использована модель возмещения дефекта сухожилия только с помощью опорных нитей. Морфологическую оценку эффективности применения экспериментальных образцов проводили в динамике через 2, 5 и 13 недель ортотопической имплантации крысам (в соответствии с ISO 10993) с использованием стандартных и дифференциальных методов гистологического окрашивания.

Было обнаружено, что уже через 5 недель в месте имплантации сухожильного биоимпланта формировался прочный соединительнотканый регенерат, обеспечивающий полноценное функционально-анатомическое замещение утраченного ахиллова сухожилия. Через 13 недель имплантации сформировавшийся регенерат был макроскопически неотличим от нормального сухожилия круглого сечения. В контроле, как через 5, так и через 13 недель имплантации признаков регенерации обнаружено не было.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности и высоком уровне эффективности материалов, полученных в соответствии с разработанной авторской технологией.

Работа проведена при финансовой поддержке РФФИ (проект №14-04-32191), Совета по грантам Президента РФ (№СП-6867.2013.4, №СП-1519.2015.4), ГЗ ВУЗу (Проект №768), а также Программы Президиума РАН «ФИМТ» (№ФИМТ-2014-136).



ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА КОМПОНЕНТЫ АТОПИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ IN VIVO

АЙЗЕНШТАДТ А.А.¹, ПЕТРОВ А.В.², СУПИЛЬНИКОВА О.В.¹,
САМОЙЛОВИЧ М.П.³, КЛИМОВИЧ В.Б.³

1 – ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург

2 – ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург

3 – Российский научный центр радиологии и хирургических техно-
логий, Санкт-Петербург

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) способны оказывать воздействие на функциональную активность клеток иммунной системы. Большинство работ посвящено исследованию влияния МСК на процессы, опосредованные Т-хелперами 1 типа, в то время как действие МСК на лимфоидные клетки, участвующие в аллергических реакциях, остается мало изученным. Целью исследования было определение эффекта введения МСК человека на проявления овалбумин-индуцированной астмы у мышей линии Balb/c.

Материалы и методы. В работе использовали модель овалбумин-индуцированной аллергической астмы у мышей по Kato Y. (1999). Культуры МСК человека получали из образцов пупочного канатика, полученных при неосложненных родах. МСК вводили внутривенно (0,3 × 10⁶ клеток на животное) за 24 часа перед или через 2 часа после каждой из трех разрешающих аэрозольных экспозиций овалбумина. Тяжесть течения астмы оценивали через 24 часа после аэрозольной экспозиции по изменению концентрации IL-1α, IL-2, IL-5, IL-6, IL-10, IFN-γ, TNF-α, GM-CSF, IL-4, IL-17 и овалбумин-специфического IgE в сыворотке крови и в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ); содержанию эффекторных клеток в БАЛ, и результатам гистологического анализа легочной ткани. Контролями служили животные с бронхиальной астмой без терапии (контроль астмы), и животные, получавшие разрешающую дозу овалбумина и внутримышечные инъекции гидрокортизона.

Результаты. Системное введение МСК через 2 часа после разрешающей дозы антигена приводило к снижению концентрации IL-4 в БАЛ и титров овалбумин-специфических IgE в сыворотке крови и БАЛ по сравнению с группой контроля астмы. При этом происходило увеличение концентрации IL-10, IFNγ, IL-1α, TNFα, IL-2, IL-6, GM-CSF. Наблюдалось увеличение сосудистой проницаемости в легких и миграции лейкоцитов в просвет бронхов. Достоверных изменений морфологических признаков аллергического воспаления (пролиферация бокаловидных клеток, перибронхиальная инфильтрация) не было выявлено.

Выводы. Таким образом, трехкратное системное введение мышам МСК человека в модели экспериментальной бронхиальной астмы приводит к снижению выраженности некоторых компонентов аллергического воспаления на фоне активации иммунного ответа на ксеногенный клеточный материал.



ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФАКТОРА РОСТА КОСТНОЙ ТКАНИ НА ЭТАПАХ ПОДГОТОВКИ БЕЛЬМ К КЕРАТОПРОТЕЗИРОВАНИЮ.

АНДРЕЕВ А.Ю.¹, ОСИДАК Е.О.², КАРЯГИНА А.С.⁵,
ЗАЙРАТЬЯНЦ О.В.⁴, ДОМОГАРСКИЙ С.П.^{2,3}, ЗАХАРОВ В.Д.¹

1 – ФГАУ «МНТК «МГ» им. акад. С.Н. Федорова» МЗ РФ, Москва, Россия;

2 – ООО фирма «Имтек», Москва, Россия;

3 – ФГБУ «РКНПК» МЗ РФ, Москва, Россия;

4 – МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия;

5 – ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия

Актуальность. При тяжелых ожоговых бельмах, когда кератопластика является неэффективной, единственным методом восстановления зрения является кератопротезирование. Низкие биомеханические характеристики бельм значительно усложняют операцию и сказываются на развитии осложнений, для профилактики и лечения которых разработаны укрепляющие методики с использованием аутологических тканей. Однако их применение имеет ряд трудностей, таких как отбор и моделирование трансплантатов нужной формы, слабые адаптационные возможности материала и его лизис в послеоперационном периоде.

Цель исследования. Оценка влияния rhBMP-2 в составе коллаген-содержащего носителя на клинико-морфологические и биомеханические характеристики роговицы.

Материал и методы. Работа выполнена на 18 кроликах породы шиншилла. Для приготовления имплантатов (коллагеновых мембран), использовали раствор 2% очищенного нативного коллагена крысы I типа («ИМТЕК»), в который добавляли стерильный раствор rhBMP-2. Полученная коллагеновая мембрана имплантирована в интрастромальный «от лимба до лимба» карман роговицы. Срок эксперимента составил 90 суток. Препараты роговицы исследованы на предмет морфологии и биомеханики.

Результаты. В послеоперационном периоде наблюдали интенсивный ангиогенез с умеренной воспалительной реакцией, которая стихала на 8-е сутки. Гистологическое исследование выявило приживление имплантата, с последующим его замещением молодой соединительной тканью. Исследование биомеханических свойств показало значительное увеличение прочностных характеристик.

Выводы. Доказана принципиальная возможность изменения морфологических и биомеханических свойств тканей роговицы под действием фактора роста rhBMP-2, что является перспективным направлением для укрепления бельм на различных этапах кератопротезирования и требует дальнейшего изучения.



ПАТТЕРН ДЕСТРУКТИВНО-РЕГЕНЕРАТИВНОГО ОТВЕТА ЭНДОТЕЛИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО МИКРО- ЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В ПЕРВЫЕ 48 ЧАСОВ ЛАКУНАРНОГО ИНФАРКТА МОЗГА

Анацкая Л.Н.¹, Гончарова Н.В.², Хулуп Г.Я.²,

1 – РНПЦ неврологии и нейрохирургии;

2 – РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Бела-
русь

Целостность эндотелия рассматривается как баланс между деструкцией эндотелия, которую отражает уровень циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в периферической крови и эндогенным потенциалом его репарации (уровнем эндотелиальных клеток предшественниц (ЭКП) и стволовых эндотелиальных клеток взрослых (СЭК)).

Цель исследования. Определить паттерн деструктивно-регенеративного ответа эндотелия церебрального микроциркуляторного русла на ишемию в первые 48 ч лакунарного инфаркта мозга (ЛИМ) при церебральной микроангиопатии (ЦМА).

Материалы и методы. С помощью проточной лазерной цитометрии исследован уровень ЭКП, экспрессирующих эндотелиальные маркеры CD34, CD133, VEGFR2, CD31, CD144, vWF, CD117 (c-Kit) и ЦЭК с фенотипом CD31+CD144+vWF+ у 35 пациентов в первые 48 ч ЛИМ при ЦМА в возрасте $60,3 \pm 12,9$ лет. Группу контроля составили 20 здоровых доноров крови.

Результаты. Уровень ЦЭК с фенотипом CD31+CD144+vWF+ в остром периоде ЛИМ при ЦМА значимо превышал уровень ЦЭК в группе условно здоровых доноров крови ($p < 0,05$). При этом уровень ЭКП с фенотипом CD133+CD34+ VEGFR-2+ и СЭК CD117+ в первые 48 ч ЛИМ значимо превышал уровень этих клеток в группе условно здоровых доноров крови ($p < 0,05$). Соотношение количества ЦЭК к относительному содержанию циркулирующих ЭКП CD133+CD34+ VEGFR-2+ и СЭК CD117+ в первые 48 ч ЛИМ составлял $3,54 \pm 0,38$ ($p < 0,01$), в группе условно здоровых лиц – $1,78 \pm 0,30$ ($p < 0,01$).

Выводы. Установлен дисбаланс маркеров деструкции и репарации сосудистого эндотелия церебрального микроциркуляторного русла в острейшем периоде ЛИМ при ЦМА со смещением гомеостатического баланса в сторону преобладания процессов дегенерации эндотелия с одновременным истощением процессов его репарации. Полученные результаты позволяют обосновать необходимость фармакологической эндотелиопротекции и ангиогенной терапии в острейшем периоде ЛИМ при ЦМА для предупреждения таких осложнений, как постинсультная деменция и сосудистый паркинсонизм, ранней вторичной профилактики ЛИМ.



РОЛЬ ИСХОДНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТОВ В РЕПАРАТИВНОМ ПРОЦЕССЕ ПРИ КРУПНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ОПЕРАЦИИ

Антропова И.П.¹ Юшков Б.Г.^{2,3}

1 – ФГБУ «УНИИТО им В.Д. Чаклина»,

2 – Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, ЗУрФУ имени
первого Президента России Б.Н.Ельцина, Екатеринбург, Россия

Эндопротезирование крупных суставов относят к высокотравматичным операциям, сопряженным со значительным повреждением тканей. Тромбоциты обеспечивают формирование сгустка, создающего механическую и биохимическую основу индукции пролиферации клеток. Экспрессия тромбоцитами молекул и рецепторов адгезии, факторов роста стимулирует регенерацию в поврежденных тканях.

Цель работы. Изучить влияние исходной активности тромбоцитов на функционирование системы гемостаза при эндопротезировании тазобедренного сустава.

Материал и методы. Активность исходной секреции тромбоцитами специфических белков β -тромбоглобулина (β -ТГ) и 4 тромбоцитарного фактора (4ТФ) определялась у 61 пациента перед эндопротезированием тазобедренного или коленного сустава. Выделялись группы с высокой и низкой тромбоцитарной активностью. После операции образцы крови отбирались через 30 минут, в 1, 3, 7, 14 сутки. Кроме тромбоцитарных маркеров определялись также маркеры коагуляции, фибринолиза, воспаления, тромбоэластографические параметры формирования сгустка крови.

Результаты. Исходная активность высвобождения β -ТГ и 4ТФ определяет характер их динамики в послеоперационном периоде: при низком исходном уровне по окончании операции происходит резкое повышение секреции, при высоком исходном уровне такого усиления не наблюдается. При исходно более высоком уровне тромбоцитарной активности после эндопротезирования крупных суставов 1) происходит более активное образование фибрина; 2) формируется сгусток крови большей плотности; 3) более высокий уровень в плазме растворимого тромбомодулина, что может свидетельствовать о более выраженной дисфункции эндотелия; 4) более выражена воспалительная реакция.

Выводы. Исходная секреторная активность тромбоцитов оказывает влияние на функционирование всех звеньев гемостаза, а также на уровень воспалительной реакции при тотальном эндопротезировании крупных суставов. Таким образом, функциональное состояние тромбоцитов может оказывать существенное влияние на течение послеоперационного процесса репаративной регенерации, характер этого влияния требует дальнейшего изучения.



БИОДЕГРАДИРУЕМЫЙ СОСУДИСТЫЙ ИМПЛАНТ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

АНТОНОВА Л.В.¹, МИРОНОВ. А.В.², БУРАГО А.Ю.¹,
МАТВЕЕВА В.Г.¹, СЕРГЕЕВА Е.А.¹, ВЕЛИКАНОВА Е.А.¹,
ГЛУШКОВА Т.В.¹, БАРБАРАШ О.Л.¹, БАРБАРАШ Л.С.¹

1 – НИИ КПССЗ, Кемерово, Россия

2 – МБУЗ «ККД», Кемерово, Россия

Актуальность. Создание биосовместимого биodeградируемого сосудистого графта для формирования in situ ткани de novo.

Цель. Оценить физико-механические свойства, долгосрочную проходимость и биосовместимость графтов малого диаметра на основе полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона (ПГБВ/ПКЛ), имплантированных в сосудистое русло крыс-самцов линии Wistar на 12 месяцев.

Материалы и методы. ПГБВ/ПКЛ-графты были изготовлены методом электроспиннинга. Физико-механические испытания (n=10) проведены на разрывной машине, изучение структуры поверхностей – методом сканирующей электронной микроскопии. Графты (n=12) имплантировали в брюшную часть аорты крыс сроком на 12 месяцев. После экcплантации проводили гистологическое исследование графтов и изучение уровней IL-1 β , 2, 4, 10, TNF- α , TGF- β 1 и VEGF в сыворотке крови животных. Полученные данные обрабатывали с помощью программы «Statistica 6.0».

Результаты. ПГБВ/ПКЛ-графты имели высокопористую поверхность и эластичность. Через 12 месяцев имплантации все графты были проходимы, а в 25% из них на внутренней поверхности сформировался монослой эндотелиальных клеток. Толща стенок графтов заполнена фибробластоподобными клетками. У животных с графтами отмечено более высокое содержание IL-2, 4, 10, TGF- β 1 и VEGF в сыворотке крови по сравнению с интактом, что демонстрирует активность процессов репарации.

Выводы. Графты на основе ПГБВ/ПКЛ могут быть использованы в качестве каркаса для формирования in situ собственного сосуда.

ЭКСПРЕССИЯ AGTR1 ХАРАКТЕРИЗУЕТ МСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ, КОММИТИРОВАННЫЕ В АДИПОГЕННОМ НАПРАВЛЕНИИ

АГЕЕВА Л.В., СЫСОЕВА В.Ю., КАЛИНИНА Н.И., ТЮРИН-КУЗЬМИН
П.А., ФАДЕЕВА Ю.И., ШАРОНОВ Г.В., ТКАЧУК В.А.

МГУ имени М.В.Ломоносова, ФФМ, Москва, Россия

Актуальность. Ангиотензин II – ключевой элемент ренин-ангиотензиновой системы (РАС) – играет важную роль не только в регуляции кровяного давления, но и в процессах



клеточной дифференцировки и репарации тканей. Основные компоненты РАС экспрессируются и в мезенхимных стромальных клетках (МСК) костного мозга. Однако влияние ангиотензина II на дифференцировочный и регенеративный потенциал МСК до сих пор изучено мало. Цель. Изучить функциональные свойства МСК жировой ткани человека (МСК ЖТ), экспрессирующих рецептор первого типа к ангиотензину II. Методы. МСК ЖТ выделяли из подкожной жировой клетчатки здоровых доноров и анализировали до 5 пассажа. Экспрессию мРНК рецепторов оценивали методом количественного ПЦР в реальном времени. Активность AGTR1 определяли с помощью зонда Fluo8 по способности агониста мобилизовать Ca^{2+} . Процент AGTR1+-клеток и их фенотип был определен методом проточной цитометрии, а субпопуляции выделяли с помощью клеточного сортера. Результаты. МСК ЖТ экспрессируют рецепторы первого и второго типов к ангиотензину II (AGTR1 и AGTR2). Клетки AGTR1+-субпопуляции коэкспрессировали AGTR2, имели фенотип CD90+/CD73+/CD105+/CD45-/CD31- и были способны дифференцироваться в адипогенном и остеогенном направлениях. Общая популяция МСК ЖТ содержала 2.2 ± 1.06 % AGTR1+-клеток. Функциональный анализ МСК ЖТ с помощью Fluo8 и антагониста AGTR1 показал, что активация AGTR1 вызывает мобилизацию Ca^{2+} . Способность к миграции и пролиферации у AGTR1+-клеток была в 1,3 и 2,5 раз ниже по сравнению с AGTR1--клетками. Оценка адипогенного потенциала показала, что AGTR1+-субпопуляция дифференцируется в адипоциты быстрее. Вывод. МСК ЖТ содержат субпопуляцию клеток, экспрессирующих AGTR1. Эти клетки обладают лучшей способностью к адипогенной дифференцировке по сравнению с тотальной популяцией МСК ЖТ и могут быть мишенью для регуляции адипогенеза со стороны ренин-ангиотензиновой системы. Работа выполнена в рамках гранта РНФ 14-15-00439.

ОСОБЕННОСТИ ОТВЕТА ММСК НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

УДАРЦЕВА О.О.¹, ЖИДКОВА О.В.¹, БУРАВКОВ С.В.²

1 – ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия

2 – ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Актуальность. Важнейшим регулятором физиологических и патологических процессов в организме являются АФК, однако их роль в функционировании мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) до сих пор изучена недостаточно. Содержание O_2 в среде является одним из факторов, оказывающих влияние на функциональное состояние ММСК, поэтому гипоксия может оказывать существенное влияние на чувствительность ММСК к АФК. В настоящей работе для генерации АФК использовали фотодинамическое воздействие (ФДВ) – один из удобных подходов, позволяющих контролируемо индуцировать эндогенные АФК в клетках.

Цель. Исследовать влияние концентрации O_2 в среде культивирования на чувствительность ММСК к ФДВ различной интенсивности.



Материалы и методы. В работе использовали ММСК жировой ткани человека, культивируемые при 20% (ММСК-20) и 1% O₂ (ММСК-1). Для проведения ФДВ использовали Фотосенс® (ФС®, 10 мкг/мл) и лазерную установку АЗОР-ФДВ (λ=675 нм). Через 1–24 ч после ФДВ анализировали содержание внутриклеточных АФК, экспрессию молекул адгезии, жизнеспособность и паракринную активность клеток.

Результаты. ФДВ дозозависимо индуцировало образование АФК и апоптотическую гибель клеток. По сравнению с ММСК-20 устойчивость ММСК-1 к высоким дозам воздействия (≥ 1 Дж/см²) была ниже, а к низким дозам – выше. Низкоинтенсивное ФДВ (0,25 Дж/см²) не оказывало влияния на жизнеспособность клеток, но вызывало перестройку актинового цитоскелета, снижало способность ММСК к ненаправленной миграции и модифицировало их паракринную активность (ИЛ-6↑, ИЛ-8↑, VEGF↑, TGFβ↓). При этом эффект был более выражен в ММСК-20. Низкие дозы ФДВ увеличивали экспрессию ICAM-1 в ММСК-20, но не в ММСК-1.

Выводы. Высокие дозы ФДВ индуцируют клеточную гибель, в то время как низкие способны модифицировать функциональную активность ММСК. Гипоксия увеличивает чувствительность ММСК к повреждающему воздействию и снижает их восприимчивость к регуляторным дозам АФК, индуцированных ФДВ.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 14-04-32267 «мол_а») и стипендии Президента (СП-6775.2013.4).

ПРОАНГИОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МУЛЬТИПО- ТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА ЧЕЛОВЕКА: ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO

Арутюнян И.В.^{1,2}, Кананыхина Е.Ю.^{1,2}, Макаров А.В.^{1,2}

1 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» МЗ РФ, Москва, Россия

2 – ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва, Россия

Актуальность. Мультипотентные стромальные клетки (МСК) пупочного канатика могут стать наиболее доступным, безопасным и эффективным вариантом для аллогенных трансплантаций, в том числе для ангиогенной терапии. **Цель.** Исследовать проангиогенные свойства МСК пупочного канатика in vitro. **Материалы и методы.** Культуры МСК были выделены из вартонова студня пупочного канатика человека. Способность МСК секретировать растворимые формы VEGF-A была оценена методом ИФА. Влияние кондиционированной МСК среды на пролиферацию, клеточную подвижность и направленную миграцию эндотелиальных клеток линии Ea.hy926 было оценено с помощью МТТ-теста, моделирования раны монослоя и transwell-системы. Моделирование ангиогенеза in vitro проводили с использованием матрикса базальной мембраны Matrigel. Эндотелиальную дифференцировку подтверждали окрашиванием на маркер CD31. **Результаты.** Несмотря на отсутствие VEGF-A, кондиционированная МСК среда стимулировала пролиферацию, клеточную подвижность и направленную миграцию эндотелиальных клеток линии



Еа.hy926. При культивировании в монослое МСК приобретали CD31+ фенотип только под воздействием кондиционированной эндотелиальными клетками среды с добавлением VEGF-A165. На поверхности матрикса базальной мембраны МСК были способны формировать нестабильную тубулярную сеть как самостоятельно, так и совместно с эндотелиальными клетками. Формируемые после разборки сети кластеры в дальнейшем становились центрами спрутинга в случае сокультивирования МСК и Еа.hy926, но не отдельно МСК. Структурной основой вновь формируемой стабильной 3D капилляроподобной сети оказались МСК, приобретшие CD31+ фенотип без воздействия экзогенного VEGF-A165. Выводы. МСК пупочного канатика человека не секретируют растворимые формы VEGF-A, но эффективно стимулируют пролиферацию, клеточную подвижность и направленную миграцию эндотелиальных клеток, способны взаимодействовать с ними, формируя общую сеть в матриксе базальной мембраны, и дифференцироваться в эндотелиоцит-подобные CD31+ клетки.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

АСКАРОВ М.Б., ФЕДОТОВСКИХ Г.В., ШАЙМАРДАНОВА Г.М.,
ЖАКУПОВА А.Х.

Национальный научный медицинский центр, Астана, Казахстан

Актуальность. При системной склеродермии (ССД) на фоне аутоиммунного воспаления развивается генерализованный фиброз, васкулопатия и др. Использование стволовых клеток костного мозга – центрального органа иммуногенеза, обладающих естественной супрессорной активностью, морфогенетическими, ангиогенетическими и антифибротическими эффектами может стать патогенетически оправданным эффективным методом лечения системной склеродермии.

Цель. Клинико–морфологическая оценка эффективности трансплантации гемопоэтических стволовых клеток костного мозга (ГСК КМ) при ССД.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 15 пациенток от 27 до 38 лет с ССД по критериям Американской коллегии ревматологов (ACR, 1980). Проведению трансплантации ГСК КМ послужила резистентность к иммуносупрессивной терапии (D-пеницилламин, азатиоприн, преднизолон) и высокий индекс активности аутоиммунного процесса (EScSG), согласно критериям Европейской группы по изучению ССД.

Биотехнологическим методом выделена ГСК КМ. Трансплантацию ГСК КМ проводили системно до 140×10^6 клеток в 200 мл. 0,9% NaCl. Эффективность оценивали по критериям Европейской группы по изучению ССД. Морфологическая оценка проводилась на биопсийном материале кожи в/3 голени в стадии индукции. Электронную микроскопию проводили на электронном микроскопе Libra 120 фирмы Carl Zeiss.



Результаты. Через 3 мес. после трансплантации ГСК КМ нами отмечено достоверное снижение кожного счета с 12,9 до 8,7 баллов и уменьшение активности ССД по ESсSG с 3,9 до 2,5 баллов. При исследовании кожи наблюдалось резкое снижение фиброза (Массон трихром), уменьшение миофибробластов, разрежение фиброзной ткани особенно вокруг сосудов. Появлялись зачатки потовых желез и волосяных фолликул. Ангиогенез. На электронном уровне – биодеградация фиброза в форме фиброклазии.

P.S. Подробные результаты будут представлены в виде устного доклада.

РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПАЦИЕНТАМ С БЫСТРО ПРОГРЕССИРУЮЩИМИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ

Аверьянов А.В., Королева И.А., Коноплянников М.А.

Федеральный научно-клинический центр ФМБА России, Москва, Ореховый бульвар, 28

Идиопатические интерстициальные пневмонии – группа воспалительных заболеваний паренхимы легких неизвестной этиологии, имеющих прогрессирующее течение и приводящих, в большинстве случаев, к развитию легочного фиброза. Традиционно эти заболевания лечатся кортикостероидными или цитостатическими препаратами, длительный прием которых приводит к развитию многочисленных осложнений. В экспериментах на животных, в том числе и нашей научной группой, была доказана эффективность внутривенного и ингаляционного введения мезенхимальных стволовых клеток при моделировании блеомицинового фиброза легких, по результатам которых было спланировано пилотное клиническое исследование. Протокол исследования утвержден на Ученом Совете и одобрен Этическим комитетом ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.

Материалы и методы: В исследование были включены 6 пациентов, 2 мужчин, 4 женщин в возрасте от 49 до 72 лет с подтвержденным диагнозом идиопатическая интерстициальная пневмония (3 больных с идиопатическим легочным фиброзом, 2 пациентов с неспецифической интерстициальной пневмонией, 1 больной с лимфоцитарной интерстициальной пневмонией). Пациенты в течение 1 года каждые 3 месяца получали 2 внутривенных инфузии суспензии донорских мезенхимальных стволовых клеток костного мозга по 200 млн клеток в каждой. Оценивались нежелательные побочные явления и динамика функциональных и рентгенологических проявлений интерстициальных изменений в легких.

Результаты: В течение первого года исследования умерло 2 пациенток (женщины) от прогрессирования дыхательной недостаточности, у двух больных не было зафиксировано изменений функциональных параметров дыхания (форсированной жизненной емкости легких и диффузионной способности легких) и 2 больных (оба мужчины). в течение 12 месяцев наблюдалось увеличение ФЖЕЛ до 27% и диффузионной способности



легких до 49 %. При компьютерной томографии высоких разрешений у выживших пациентов через 12 месяцев лечения не установлено существенной динамики признаков интерстициального поражения. Из нежелательных побочных эффектов у 50% больных зафиксированы головокружения, чувство жара, субфебрильная лихорадка в день проведения инфузий.

Выводы: Трансплантация аллогенных мезенхимальных стволовых клеток пациентам с идиопатическими интерстициальными пневмониями быстро прогрессирующего течения в заявленных режимах продемонстрировала отсутствие серьезных нежелательных побочных эффектов и умеренную функциональную и клиническую эффективность без значимых изменений рентгенологических проявлений интерстициального процесса в легких.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЛАПЛАНТА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ МИОКАРДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ

АФАНАСЬЕВ С.А., КОНДРАТЬЕВА Д.С., МАРКОВА Н.К., ПОПОВ С.В.,
ЛЕБЕДЕВА* А.И., МУСЛИМОВ* С.А.

НИИ кардиологии, г. Томск, Россия

634012, г.Томск, ул. Киевская, 111А, Tursky@cardio-tomsk.ru

*ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»
Минздрава России

Стимуляция регенеративных возможностей миокарда позволит избежать развития постинфарктного кардиосклероза (ПИКС) и сердечной недостаточности. Показано, что биоматериал Аллоплант, стимулирует формирование органотипических тканей, в том числе при регенерации скелетных мышц.

Цель. В эксперименте показать возможность интрамиокардиальных инъекций Аллопланта предупреждать развитие постинфарктного ремоделирования сердца.

Материалы и методы. На самцах крыс линии Вистар, массой 180–200 г. моделировали ПИКС, перевязывая левую нисходящую коронарную артерию. Затем в стенку левого желудочка сердца выполняли инъекции биоматериала Аллоплант. Через 45 суток, крыс выводили из эксперимента. Измеряли размер зоны рубца и в изометрическом режиме оценивали инотропную реакцию изолированно перфузируемых папиллярных мышц левого желудочка на кратковременное прекращение электрической стимуляции (тест «post-rest»). Интактные крысы и крысы с ПИКС без Аллопланта служили контролем.

Результаты. Морфометрическая оценка последствий коронароокклюзии показана в таблице. Использование Аллопланта эффективно предупреждало развитие ПИКС.



Группа крыс	% крыс с инфарктом	S рубца (% от S лев. желудочка)
ПИКС (n=12)	100	> 40 %
ПИКС+ Аллоплант (n=18)	45	< 10%

В контроле развитие ПИКС сопровождалось подавлением инотропного ответа миокарда на тест «post-rest». При сочетании коронароокклюзии и инъекций Аллопланта, результаты теста «post-rest» тоже были ниже, чем у интактных крыс, но достоверно ($p < 0,05$) выше в сравнении с контрольным ПИКС.

Выводы. Интрамиокардиальные инъекции биоматериала Аллоплант стимулируют регенеративные возможности миокарда, что препятствует развитию постинфарктного кардиосклероза и способствует сохранению его сократительной активности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗРАБОТАННОГО КЛЕТОЧНО-ТКАНЕВОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОЖИ

Алейник Д.Я., Бугров С.Н., Чарыкова И.Н., Сидорова Т.И.,
Погодин И.А., Докукина Л.Н., Стручков А.А., Кулакова К.В.

ФГБУ «ФМИЦ» Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия

Одним из современных направлений регенеративной медицины является разработка различных видов материалов для лечения ран. Имеющиеся заменители кожи не всегда удовлетворяют требованиям специалистов, что делает поиск новых материалов для лечения дефектов кожи особенно актуальным.

Цель работы – оценить возможность использования оригинального клеточно-тканевого комплекса для восстановления дефектов кожи в эксперименте и клинике.

Материалы и методы. Оценка цитотоксичности разработанного материала *in vitro* проведена на культурах диплоидных фибробластов человека и животных и МСК, выделенных из различных источников. Эксперимент *in vivo* выполнен на крысах Wistar на модели скальпированной раны (контрольная группа — заживление дефектов под естественным струпом, группа «опыт-1» — укрытие ран разработанным материалом, группа «опыт-2» — в область дефекта кожи инъекционно введены по 2 млн. МСК: по периметру раны и непосредственно под наложенный материал). Животные выводились из эксперимента через 3, 6, 12 суток после нанесения раны. Результаты оценивались с помощью планиметрических и гистологических методов. Клиническая апробация проводилась у 11 пациентов с ожогами I-II степени на площади от 15 до 35% поверхности тела.

Результаты. На модели *in vitro* продемонстрировано отсутствие цитотоксичности и хорошие сорбционные свойства разработанных раневых покрытий. В эксперименте



на животных зафиксирована эффективность применяемого комплекса, что проявлялось сокращением сроков заживления и отсутствием инфекционных осложнений. При клинической апробации отмечено сокращение сроков восстановления кожного покрова по сравнению с использованием стандартных методов ведения пациентов с ожоговыми ранами. **Вывод.** Разработанный биологический комплекс может быть использован как эффективное раневое покрытие, оптимизирующее раневой процесс и способствующее сокращению сроков эпителизации ран кожи.

ОСТЕОГЕННАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ПОЛИЛАКТИДНЫХ МАТРИЦ АХ

Александрова С.А., Никонов П.О., Нащекина Ю.А.

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Настоящая работа является частью исследования, посвященного разработке тканеинженерных конструкций на основе поли(L,L-лактида) и мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга (ММСК КМ) для восстановления костной ткани. Целью работы являлось изучение остеоиндуктивных свойств модифицированных белками внеклеточного матрикса полилактидных матриц. **Материалы и методы.** Клетки первичной культуры ММСК КМ новорожденного кролика высевали на следующие субстраты: плёнки на основе поли(L,L-лактида) – нативные и модифицированные раствором коллагена I типа или фибрина. После инкубации в остеогенной дифференцировочной среде клетки окрашивали смесью BCIP-NBT, специфически выявляющей щелочную фосфатазу (ЩФ); активность ЩФ рассчитывали по количеству p-нитрофенола, продуцируемое ферментом в присутствии его субстрата; наличие кальциевых отложений выявляли с помощью окраски ализариновым красным. **Результаты.** Было выявлено, что на немодифицированной полилактидной матрице при росте в питательной среде наблюдается усиленная окраска на ЩФ в небольших группах клеток и в остеогенных узелках и более высокие показатели АЩФ по сравнению с контролем. На матрице, модифицированной коллагеном и фибрином, эти признаки проявлялись с большей интенсивностью по сравнению с контролем (культуральный пластик) и только полилактидом. Наиболее высокие показатели АЩФ по сравнению с контролем наблюдались при росте ММСК на полилактидных пленках, модифицированных коллагеном I типа. В дифференцировочных условиях эти признаки проявлялись более интенсивно. При окраске ализариновым красным были выявлены интенсивные отложения кальция при инкубации клеток в дифференцировочной среде в течение трех недель во всех вариантах полилактидных пленок. **Выводы.** Было выявлено, что полилактидная матрица обладает остеоиндуктивной способностью, которая проявляется не только в дифференцировочной, но и в ростовой среде. Эта способность усиливается при модификации матриц белками ВКМ – фибрином и в большей степени коллагеном I типа.



ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И АДГЕЗИВНОСТИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ ДЛЯ КЛЕТОК ОСТЕОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

АЛЕКСАНДРОВА С.А.¹, БЛИНОВА М.И.¹, КАСЬЯНОВА Е.С.²,
ВИШНЕВСКИЙ А.А.³, ГОРДЕЕВ С.К.⁴

1 – ФГБУ «Институт цитологии» РАН,

2 – Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет,

3 – ФГБУ «НИИ Фтизиопульмонологии»,

4 – АО «Центральный НИИ материалов», Санкт-Петербург, Россия

В последние годы наблюдается повышенный интерес к применению углеродных наноматериалов в качестве скаффолдов для культивирования и трансплантации клеток. Целью работы являлось изучение токсичности и адгезивности углеродных наноконкомпозитов для клеток остеогенного происхождения. Материал и методы. Проведено сравнительное исследование трех видов углеродных композитов: № 1 – углерод-углеродный имплант Гарго (плотность 1.5 г/см³, пористость 20 %, размер пор 100-1000 мкм), № 2 – НАК-30, изготовленный из наноалмазов (плотность 0.85 г/см³, пористость 65%, размер пор 12 нм), № 3 – М 2/1 (плотность 2.03 г/см³, пористость 36%, средний размер пор 100 нм) (все образцы производства АО «Центральный НИИ Материалов», Санкт-Петербург). Изучали адгезивность биоматериалов для клеток остеосаркомы человека (линия HOS) по количеству прикрепившихся клеток в течение 30 мин и 3 ч, а также оценивали морфологию клеток, инкубировавшихся в присутствии образцов. Результаты. Было выявлено, что после инкубации с образцами в течение 1 сут клетки во всех вариантах демонстрировали нормальную морфологию. Однако адгезивность образцов для клеток отличалась. Самые лучшие результаты были отмечены при работе с НАК-30. Этот имплант отличался самой высокой смачиваемостью – раствор с клетками сразу проникал в материал. В течение 30 мин к нему прикрепилось 60% клеток, а за 3 ч – все клетки. Динамика адгезии клеток к образцу М 2/1 была сходной с динамикой адгезии к образцу № 2. Однако при инкубации клеток в присутствии образца в течение 5 сут у части клеточной популяции наблюдалось изменение морфологии. Кроме того, смачиваемость у образца № 3 была хуже, чем у № 2. Имплант №1 смачивался также довольно плохо. Количество клеток, прикрепившихся к образцу в течение 3 ч, составляло всего около 20 %. Однако за 1 сут практически все клетки оказались в образце. Анализ морфологии клеток, инкубировавшихся в присутствии образца в течение 5 сут, не выявил патологических характеристик. **Вывод.** Несмотря на низкую адгезивность, углеродные наноконкомпозитные скаффолды не являются цитотоксичными для клеток остеогенного происхождения.



ПРИМЕНЕНИЕ ТРОМБОЦИТАРНОЙ АУТОЛОГИЧНОЙ ПЛАЗМЫ В МЕДИЦИНЕ. ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

АХМЕРОВ Р., ЗАРУДИЙ Р., КОРОТКОВА О., ОВЕЧКИНА М.,
ГУСЕВА В., ОБОЛЕНСКИЙ В.

ФГБОУ ВПО «СПБГАВМ», кафедра оперативной хирургии
Клиника «Счастливая семья»

Тромбоцитарная аутоплазма (ТАП) – это супернатант тромбоцитов в плазме, выделенный из крови человека, используется для ускорения роста кости и мягких тканей в стоматологии, травматологии, спортивной медицине, косметологии и хирургии. Это одно из направлений тканевой инженерии и клеточной терапии.

Задачи исследования: 1) оценить эффективность ТАП в лечении хронических воспалительных процессов; 2) выявить пролиферирующие стволовые клетки в коже головы пациентов с диффузной алопецией до и после лечения.

Материалы и методы:

1) Проведен анализ результатов лечения 81 пациента с хроническими ранами различной этиологии; 2) Объектом исследования служили биопсийные кусочки кожи головы 8 пациентов-волонтеров с диагнозами диффузная алопеция до лечения и после лечения в течение 4 месяцев.

Результаты:

1) При аппликационном использовании ТАП 1 раз в 7 дней у 38 больных достигнута полная эпителизация ран на 40–45 сутки от начала лечения. У 4 пациентов лечение оказалось неэффективным.

2) Подсчет Ki-67 – позитивных клеток показал, что среднее количество пролиферирующих клеток кожи головы пациента после лечения выше, чем до. В базально-супрабазальных участках сальных желез пролиферирующие клетки визуализировались чаще в коже пациентов после лечения, чем у пациентов до лечения.

Выводы: На основании проведенных исследований ТАП представляется универсальным, доступным, безопасным методом стимуляции физиологической регенерации.



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОК СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И ГИПОКСИИ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ EX VIVO ЭКСПАНСИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

АНДРЕЕВА Е.Р., Андрианова И.В., Горностаева А.Н.,
Сотнезова Е.В., Лобанова М.В., Буравкова Л.Б.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Хорошевское ш., 76-а, Москва, Россия

Пуповинная кровь (ПК) в настоящее время рассматривается как полноценный источник гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток (ГСПК). Востребованным подходом для увеличения количества ГСПК является экспансия ex vivo с использованием стромальных фидеров. Недавно мы предложили функциональный подход к обогащению популяции ГСПК ПК за счет их адгезии к мультипотентным мезенхимальным стромальным клеткам из жировой ткани (жтМСК) и последующей экспансии потомков прикрепившихся малодифференцированных клеток. Взаимодействие ГСПК/жтМСК сопровождалось увеличением экспрессии генов, кодирующих молекулы адгезии (ICAM-1, VCAM-1, CDH1), и снижением активности генов, вовлеченных в ремоделирование тканевого матрикса (COLs, MMPs, TIMPs, ADAMs, HAS1) и интегринов (ITGs). Эти изменения обеспечивали реализацию гемопоэз-поддерживающей активности жтМСК. Обогащение вновь образовавшейся популяции ГСПК CD34+ клетками составило 6 (20% O²) и 8 («физиологическая» гипоксия, 5% O²) раз за счет клеток разной коммитированности: КООБ и КОЕ. В условиях «физиологической» гипоксии (5%) экспансия ГСПК происходила более эффективно благодаря увеличению количества КОЕ, среди которых возрастала доля мультипотентных предшественников – BFU-E, CFU-GEMM и CFU-GM.

Таким образом, снижение уровня O₂ позволяет увеличить число CD34+клеток и обеспечить преимущественное развитие определенных гемопоэтических ростков, что важно, как с точки зрения фундаментальных физиологических механизмов гемопоэза, так и в связи с тем, что направленная экспансия предшественников гемопоэтических клеток ex vivo может иметь важное значение для нужд регенеративной медицины.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий».



ВЛИЯНИЕ МЕСТА ТРАНСПЛАНТАЦИИ НА МОРФОЛОГИЮ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОГО ЭКВИВАЛЕНТА ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ (ХЭ)

БАТУХТИНА Е.В.³, КИСЕЛЕВА Е.В.^{1,2}, ТЕРСКИХ В.В.¹

1 – ФГБУН ИБР РАН, Москва, Россия

2 – ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

3 – ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

Актуальность. Лечение дефектов хряща представляет клиническую проблему из-за плохой способности хрящевой ткани к регенерации. Исследование изменения морфологии ХЭ в условиях *in vivo* позволит расширить понимание механизмов регенерации хряща.

Цель – исследовать влияние места трансплантации на изменение морфологии ХЭ.

Материалы и методы. В работе использовали самцов кроликов породы Советская Шиншилла, весом 3,5–4 кг. ХЭ были приготовлены из аутологичных хондроцитов и трансплантированы в роговицу, субтеноново пространство, подкожно, межфасциально, на прямую мышцу живота и сальник. Гистологическое исследование ХЭ проводили через 12–16 недель.

Результаты. Выявлены различия в морфологии ХЭ в зависимости от места трансплантации. Показано приживление ХЭ с сохранением исходной морфологии в тканях роговицы, тогда как в субтеноновом пространстве ХЭ не был выявлен, возможно, в результате лизиса или дедифференцировки клеток, входящих в состав ХЭ. При подкожной имплантации выявлена оссификация ХЭ. При межфасциальной имплантации ХЭ подвергается дистрофическим изменениям с частичной кальцификацией. При трансплантации на мышцу и сальник показано сохранение морфологии ХЭ с частичной кальцификацией.

Выводы. Приживаемость и сохранение морфологических характеристик ХЭ зависит от места трансплантации и кровоснабжения. Недостаточное кровоснабжение трансплантата (подкожная или межфасциальная имплантация) стимулирует оссификацию ХЭ, избыточное кровоснабжение и/или выраженная иммунная реакция (как в случае трансплантации в субтеноново пространство) ведет к дедифференцировке и/или лизису ХЭ

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-12052



ПИЛОТНОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНС- ПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ СО СПИНАЛЬНОЙ ТРАВМОЙ: РЕЗУЛЬТАТЫ 6 МЕСЯЧНОГО НАБЛЮДЕНИЯ

О.В. Дуров, А.В. Аверьянов В.П. БАКЛАШЕВ, М.А.
ТИХОНОВСКИЙ, (Россия) JE AHLFORS (CANADA)

ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва, Россия, New World Laboratories
Inc., Canada Montreal

Актуальность: Позвоночно-спинномозговая травма (ПСМТ) является вторым после инсульта заболеванием как по частоте (0,6 – 1,0 на 10 000 населения), так и по тяжести инвалидизации и отсутствию эффективных методов терапии неврологических осложнений. Лишь около 20% пациентов после ПСМТ способны хотя бы частично восстановить неврологический дефицит с помощью нейрореабилитации. Для остальных единственной надеждой на восстановление утраченных функций является регенеративная медицина. Доклинические исследования показали, что нейральные стволовые клетки (НСК) способствуют регенерации поврежденного спинного мозга у животных. Описаны отдельные случаи успешного применения НСК, в частности, из обонятельной луковицы, для лечения неврологических осложнений ПСМТ у человека, однако системные исследования по разработке регенеративной технологии для лечения ПСМТ пока отсутствуют. Целью нашей работы было оценить безопасность и эффективность трансплантации первично репрограммированных аутологичных НСК у пациентов с хронической ПСМТ на уровне грудного отдела позвоночника.

Материалы и методы исследования: Первично репрограммированные НСК из костного мозга пациентов были получены по технологии J-E Ahlfors (Canada) с помощью запатентованного коктейля репрограммирования. В исследовании приняли участие 4 пациента с ПСМТ на грудном уровне в среднем спустя год после травмы с сформированным неврологическим дефицитом и исчерпанными возможностями нейрореабилитации (140–210 баллов по шкале ISNCSCI, ASIA). Трём пациентам перед операцией было присвоено значение ASIA A (полный перерыв спинного мозга), одному – ASIA B (неполный перерыв спинного мозга). Пациентам выполняли открытую операцию, частичное иссечение рубцовой ткани и имплантацию в спинной мозг аутологичных НСК вместе с регенеративным матриксом (NWL, Canada). В течение 6 месяцев проводили клиническое наблюдение с оценкой по шкале ASIA, а также анализом данных МРТ, ЭМГ и биомеханики движений в динамике.

Результаты: Показана безопасность внутримозговой имплантации первично репрограммированных НСК в краткосрочном периоде (6 месяцев). У всех 4 пациентов наблюдалось повышение показателей шкалы ASIA в среднем на 20 баллов. Уровень анестезии в течение периода наблюдения уменьшился на 1–3 сегмента как для поверхностной, так



и для глубокой чувствительности. Для двигательной активности нижних конечностей был показан прогресс по шкале ASIA с 0 баллов до операции до 6–14 баллов через 6 месяцев. Поверхностная ЭМГ и анализ биомеханики движений показали угасание спонтанной клонусовидной биоэлектрической активности и появление произвольной активности в прямых и приводящих мышцах бедра. Контроль за функциями тазовых органов в течение 6 месяцев после операции в целом не изменялся, хотя у части пациентов наблюдалась нормализация тонуса наружного сфинктера прямой кишки и появление анального рефлекса.

Выводы: Показана безопасность трансплантации первично репрограммированных НСК в краткосрочном периоде. В существующем виде данная технология приводит к частичному регрессу неврологического дефицита у пациентов с хронической ПСМТ. Технология регенеративной терапии ПСМТ требует дальнейшей оптимизации как с точки зрения нейрохирургической техники, так и выбора оптимального срока травмы для трансплантации НСК.

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ФРАКЦИЙ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ДЛЯ ВОЗМОЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ

БЕГИМБЕТОВА Д.А.¹, С.Б. ОРАЗОВА Д.М.², БАЙСХАНОВА А.А.¹,
СЕЙТАК К.Н.¹, МЕРИНЯНУ¹

1 – ЧУ «National Laboratory Astana» АО «Назарбаев Университет»,
г. Астана, Казахстан

2 – ДГП НИИ проблем биологии и биотехнологии РГП КазНУ им.
аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

Актуальность: Обладая высокой пластичностью метаболизма при изменении физиологических условий, цианобактерий способны продуцировать такие ценные соединения, как аминокислоты, полипептиды, жирные кислоты, и другие биологически активные соединения. Подобные исследования в данной области раскрывают большие возможности для использования цианобактерий в качестве потенциального источника новых полезных соединений с перспективой их применения в медицине.

Цель: Целью настоящего исследования явилось проведение скрининга токсического потенциала белковых фракций цианобактерий с разной концентраций белка для выявления концентраций, не вызывающих токсического действия.

Материал и методы: Мононуклеарные клетки периферической крови здорового человека (МНК) инкубировали 24 часа с фракциями в концентрации белка 1000, 100, 10 мкг/мл следующих потенциальных видов цианобактерий: *Amorphonostoc paludosum*, *Anabaena constricta*, *Anabaenaxa*, *Anabaena* sp., *Anabaenopsis* sp. (D3), *Anabaenopsis* sp. (D6), *Sphaeronostoc coeruleum*. Для оценки токсического потенциала фракций цианобактерий был определен уровень активных форм кислорода (АФК) в клетках (№ C6827, Life Technologies, USA) на гибридный многофункциональный ридере Synergy H1 Hybrid Multi-Mode Microplate Reader (BioTek, USA).



Результаты: Уровень АФК при воздействии высоких концентраций фракций *Anabaena laxa*, *Anabaena sp.* статистически значимо превышал уровень контроля ($P < 0,05$), т.е. данные фракции с вышеуказанными концентрациями проявили токсические свойства. Средние концентрации белка *Anabaena sp.*, *Anabaenopsis sp.* (D6) и низкая концентрация белка *Amorphonostoc paludosum* статистически значимо снижали уровень АФК ($P < 0,05$). Остальные фракции изучаемых цианобактерий с различными концентрациями были на уровне контроля.

Выводы: В дальнейшем выявленные нетоксические концентрации белков изучаемых фракций цианобактерий могут быть использованы для оценки антирадикальных, антиоксидантных и других протекторных свойств и применены в медицине.

«МЕТИЛИРОВАНИЕ ОНКСУПРЕССОРНЫХ ГЕНОВ MIR-132 И MIR-137 ПРИ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ПОЧКИ»

БЕРЕСНЕВА Е.В., ПРОНИНА И.В., ХОДЫРЕВ Д.С., БРАГА Э.А.,
ЛОГИНОВ В.И.

ФГУП Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, Россия
Москва

Актуальность. В России ежегодно регистрируется 8 тыс. смертельных случаев от рака почки, из них на светлоклеточный рак почки (скПКР) приходится 80–90% случаев. Из-за бессимптомного течения заболевания на ранних стадиях диагноз скПКР ставится на поздних стадиях у 30% пациентов. Перспективным методом диагностики может стать использование эпигенетических маркеров этого заболевания, таких как метилирование промоторов генов микроРНК. МикроРНК, малые некодирующие РНК, подавляющие экспрессию с мРНК генов-мишеней, могут подавлять экспрессию как опухоль-супрессорных, так и онкогенных белков (например, Мус и CDX2). Эпигенетические нарушения метилирования генов микроРНК могут способствовать онкогенезу. Ранее нашей группой было изучено метилирование генов miR-9-1, miR-9-3, miR-34b/c, miR-124a, miR-191 и miR-212 и показано повышение частоты метилирования этих генов при раке почки, лёгкого и толстой кишки.

Цель. Использовать статус метилирования генов микроРНК miR-132 и miR-137 в качестве раннего биомаркера скПКР.

Материалы и методы. Метилирование промоторной области гена определяли в 32 парных образцах опухолевой и прилежащей нормальной ткани. Геномную ДНК, выделенную из ткани, подвергали бисульфитной конверсии и амплифицировали с помощью метил-специфичной ПЦР. Контролем служили образцы из ткани почки от здоровых доноров.

Результаты. Впервые при скПКР было обнаружено значимое повышение частоты метилирования miR-137 в опухоли по сравнению с нормой ($p < 7,6 \times 10^{-5}$), а также установлена корреляция частоты метилирования со стадией и размером опухоли ($p < 0,0272$ и $0,0075$, соответственно). Для гена miR-132 была установлена корреляция со степенью



дифференцировки клеток опухоли (р 0,0720).

Выводы. Предположена онко-супрессорная роль микроРНК miR-132 и miR-137 при светлоклеточном раке почки. Степень метилирования гена miR-137 может быть использована как маркер для диагностики скПКР.

ИЗУЧЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ СПОСОБНОСТИ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА КОЛЕННОГО СУСТАВА КРЫСЫ.

Божокин М.С., Божкова С.А., Наконечный Д.Г.,
Нетылько Г.И., Румакин В.П.

ФГБУ РНИИТО им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург, Россия

Для исследования перспективных методов восстановления суставной поверхности необходимо учитывать естественные, но ограниченные способности гиалинового хряща к регенерации. Целью исследования – оценить регенеративную способность гиалинового хряща коленного сустава крыс при моделировании поверхностного дефекта различного диаметра.

Материалы и методы: были сформированы дефекты хряща коленного сустава диаметром 1,5; 1,0; 0,6 и 0,3 мм глубиной 0,5 мм 4 группам половозрелых крыс. На 21 и 90 сут. выполняли СЭМ и гистологическое исследование области дефектов. Результаты: реактивные изменения суставного хряща при дефектах 1,5 и 1,0 мм были сходными: на 21 сут. волокнистый хрящ заполнял всю зону повреждения, по краям которой были очаги энхондрального костеобразования, при СЭМ визуализировались множественные краевые трещины, на 90 сут. глубина дефекта достигла субхондральной пластинки. По данным СЭМ на 21 сутки границы дефекта 0,6 мм, также как и дефекта 0,3 мм были нечеткими, и область повреждения визуально не отличалась от интактной хрящевой поверхности. Гистологически – центральная область дефектов 0,6 и 0,3 мм была заполнена волокнистым хрящем, при этом гиалиновый хрящ определялся при дефекте 0,6 мм в виде краевой пластины, а при дефекте 0,3 мм – только в центральной зоне повреждения под волокнистым хрящем. На 90 сутки по данным СЭМ зона дефекта 0,6 мм увеличилась в размере до 1,0 мм, при этом краевая и центральные области дефекта не отличались между собой, гистологически – волокнистый хрящ, по-прежнему, определялся в центре повреждения, гиалиновый – в краевой зоне. В то же время, визуально краевая и центральная зоны повреждения 0,3 мм не отличались от интактной хрящевой поверхности, при этом область дефекта была заполнена волокнистым хрящем.

Выводы: Таким образом, способности гиалинового хряща к регенерации крайне малы. В области созданного дефекта на первом этапе идёт активная, клеточная пролиферация с образованием преимущественно волокнистого хряща, деградирующего впоследствии. При любом размере экспериментального дефекта наблюдается хронизация повреждения суставного хряща, при этом сроки ее формирования напрямую зависят от величины первоначального повреждения.



МСК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ НЕ ПРОВОЦИРУЮТ АКТИВАЦИЮ АЛЛОГЕННЫХ ЛИМФОЦИТОВ

БОБЫЛЕВА П.И., ГОРНОСТАЕВА А.Н., АНДРЕЕВА Е.Р.,
БУРАВКОВА Л.Б.

ФГБУ ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Россия, Москва, Хорошевское шоссе 76 а,

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются перспективным инструментом регенеративной медицины в связи с их особым статусом по отношению к иммунным клеткам, что позволяет использовать аллогенные МСК. Ранее считалось, что МСК иммунопривилегированы, однако, по данным последних исследований, это не совсем так: они могут выступать как антигенпрезентирующие клетки и подвергаться лизису естественными киллерами. В связи с этим необходим анализ ответа аллогенных нестимулированных лимфоцитов на МСК. Этот вопрос практически не изучен, а немногочисленные данные получены только при 20% кислорода, хотя уровень O_2 в тканях значительно ниже (2-7%). Мы впервые оценили влияние ЖТ-МСК человека на нестимулированные лимфоциты при уровне кислорода, близком к тканевому (5% O_2).

После 72 часов сокультивирования оценивали активацию, пролиферацию, цитокиновый профиль и жизнеспособность лимфоцитов. Ни МСК, ни гипоксия не стимулировали пролиферативный ответ лимфоцитов и активацию Т-клеток (CD3+) по маркерам HLA-DR и CD25. Однако ранняя активация Т-лимфоцитов (CD3+/CD69+) существенно возрастала после сокультивирования. МСК поддерживали жизнеспособность лимфоцитов. После взаимодействия уровень ИЛ-8 увеличивался, поскольку МСК также секретируют ИЛ-8, и уровень его в сокультуре являлся суммарной продукцией обоими типами клеток. МСК не стимулировали продукцию ИЛ-10, ИЛ-6, ИНФ- γ , ФНО- α .

Таким образом, МСК не вызывают выраженного иммунного ответа аллогенных лимфоцитов, за исключением ранней активации, которая существенно ослабляется в условиях «физиоксии». Значимыми представляются данные об отсутствии изменений экспрессии HLA-DR, появление которого на иммунных клетках, обуславливает их вовлечение в реакцию «трансплантат против хозяина». Полученные данные дают представление об особенностях взаимодействия МСК и лимфоцитов в условиях тканевого содержания кислорода.

Работа выполнена при поддержке Стипендии Президента РФ СП-3502.2015 и гранта РФФИ 14-04-31362 мол_а



ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И ЭРИТРОПОЭТИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФИБРОБЛАСТОВ И МУЛЬТИПО- ТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Бондаренко Н.А.^{1,2}, Лыков А.П.^{1,2}, Никонорова Ю.В.¹,
Суровцева М.А.^{1,2}, Повещенко О.В.^{1,2}, Повещенко А.Ф.^{1,2},
Покушалов Е.А.², Романов А.Б.², Коненков В.И.¹

1 – НИИКЭЛ, г. Новосибирск, Россия;

2 – ФГБУ ННИИПК им. Е.Н. Мешалкина МЗ РФ, г. Новосибирск, Россия

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и эритропоэтин (ЕРО) в настоящее время рассматриваются в качестве потенциальных терапевтических агентов, повышающих эффективность регенерации/репарации поврежденных тканей. Целью исследования стало изучение эффекта VEGF и ЕРО на пролиферативную и миграционную активность фибробластов кожи человека и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) жировой ткани *in vitro*.

Пролиферацию и миграцию ММСК и фибробластов изучали на клеточном анализаторе xCELLigence (Roche) по изменению клеточного импеданса, выражающегося в значении клеточного индекса (КИ), в стандартных условиях и под влиянием VEGF (10 нг/мл) и ЕРО (33 МЕ/мл).

Начиная с 32 часа эксперимента пролиферативный потенциал фибробластов выходил на плато, достигая максимума к 48 часам для VEGF (КИ= 1,63) и для ЕРО (КИ= 2,1) по сравнению с контролем (КИ= 0,54). Пролиферация ММСК к 16 часам увеличивалась в присутствии VEGF (КИ=1,5) и ЕРО (КИ=1,5) по сравнению с контролем (КИ=1,1), а к 48 часу эксперимента ЕРО стимулировал пролиферативный потенциал ММСК сильнее по сравнению с VEGF и контролем. Показана стимуляция миграции фибробластов под действием VEGF и ЕРО по сравнению с контролем. Также отмечено статистически значимое увеличение миграции фибробластов в 7,5 раз в присутствии VEGF по сравнению с ЕРО и контролем. В отношении ЕРО показано, что к концу эксперимента фибробласты мигрируют быстрее, чем в контроле, хотя статистически незначимо. Что касается миграции ММСК нами не выявлено статистически значимых различий влияния VEGF и ЕРО по сравнению с контролем.

Таким образом, выявлены различия в эффекте VEGF и ЕРО на функциональные свойства фибробластов кожи и ММСК. Показано, что фибробласты быстрее пролиферируют и мигрируют под влиянием VEGF и ЕРО по сравнению с ММСК.



ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ ИММУНОМОДУЛЯТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

БУРАВКОВА Л.Б., ГОРНОСТАЕВА А.Н., АНДРЕЕВА Е.Р.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Хорошевское ш., 76-а, Москва, Россия

За последние годы достигнут значительный прогресс в изучении свойств МСК, в том числе, отсутствие иммунного ответа аллогенных иммунных клеток при взаимодействии и феномена иммуносупрессии. Результат взаимодействия МСК с клетками иммунной системы может зависеть от различных факторов: свойства самих МСК и состояния иммунных клеток, условия взаимодействия, микроокружения, природы стимулятора клеток.

Анализ данных, полученных в экспериментах *in vitro*, позволяет выявить ключевые моменты, которые должны быть учтены для повышения эффективности использования МСК. Иммуномодуляторную активность *in vitro* демонстрируют МСК от всех исследованных млекопитающих, включая человека. Эффективность иммуносупрессии МСК из разных тканей одного и того же донора может отличаться. МСК могут подавлять иммунный ответ ауто-, алло- и ксеногенных иммуноцитов. Для запуска иммуномодуляторной активности МСК должны быть активированы. Поскольку прекультивирование МСК перед использованием *in vivo* проводится практически всегда, возможность модулирования иммуносупрессивной активности МСК является важнейшим инструментом. Фаза роста МСК, количество пассажей которое они прошли, степень их коммитированности, а также факторы клеточного микроокружения, в частности концентрация O₂, могут существенным образом изменять их иммуномодуляторный потенциал, определяя тем самым эффективность их дальнейшего применения. МСК способны подавлять активность клеток врожденного и адаптивного иммунитета, причем эффект зависит от целого ряда факторов: соотношения МСК/иммуноциты, времени взаимодействия, наличия/отсутствия прямого клеточного контакта. Дальнейшие исследования в этой области помогут прояснить механизмы реализации иммуносупрессивных эффектов МСК, а также сделает возможным подбор условий, оптимальных для иммуносупрессии.

Работа выполнена при поддержке программы №7 Президиума РАН и гранта РФФИ № 14-04-313 мол_а.



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

**БОРСАКОВА Д.В., ПРОТАСОВ Е.С., АЛЕКСАНДРОВИЧ Ю.Г.,
ВУЙМО Т.А, СИНАУРИДЗЕ Е.И. АТАУЛЛАХАНОВ Ф.И.**

ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева», МЗ РФ, Москва, Россия

Современная фармакология ищет новые лекарственные формы, позволяющие сделать препарат безопасным, продлить его циркуляцию в организме или доставить активное вещество к нужным органам. Одной из таких форм являются контейнеры-носители на основе эритроцитов. Эти клетки имеют ряд преимуществ по сравнению с другими носителями. Они доступны, биосовместимы и биodeградируемы, способны длительно циркулировать в кровотоке. Заключение в эритроциты препарат может постепенно высвобождаться в кровоток (пролонгированная форма лекарства), или работать с субстратом, поступающим в клетки из кровотока (эритроцит-биореактор, ЭБР). Внутри ЭБР ферменты способны функционировать, но не вызывают иммунную реакцию, а время их циркуляции в организме увеличивается. Методы включения препаратов в эритроциты различны. В нашей лаборатории разработаны технологии получения эритроцитов-носителей для создания пролонгированных форм противоопухолевых антибиотиков доксорубицина, даунорубицина и митоксантрона, которые уже применялись клинически. Показана возможность включения в эритроциты ферментов (антигемофильный фактор IX и L-аспарагиназа). Разработаны ЭБР на основе ферментов метаболизма этанола и аммония.

Наша работа посвящена разработке технологии гипоосмотического лизиса для включения в эритроциты ферментных препаратов, и созданию прибора для стерильного получения ЭБР с целью их последующего клинического применения. Разработана кинетическая модель ЭБР для системы ферментов, удаляющих из кровотока аммоний, результаты которой согласуются с экспериментальной кинетикой *in vitro*. Создана технология включения в эритроциты глутаматдегидрогеназы и аланинаминотрансферазы, для удаления аммония из кровотока при лечении гипераммониемии, а также L-аспарагиназы, применяемой в терапии ОЛЛ и других онкозаболеваний. Полученные результаты продемонстрировали, что ЭБР являются перспективной лекарственной формой для исследованных ферментов.

МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПАКЛИТАКСЕЛА НА СЕМЕННИКИ И ФАРМАКОЛО- ГИЧЕСКИЕ ПУТИ ЕГО СНИЖЕНИЯ

**БОРОВСКАЯ Т.Г., ДЫГАЙ А.М., ЖДАНОВ В.В.,
ЧАЙКОВСКИЙ А.В., КАМАЛОВА С.И., ГРИГОРЬЕВА В.А.,
ПОЛУЭКТОВА М.Е., ВЫЧУЖАНИНА А.В.**

НИИФирм им. Е.Д. Гольдберга, Томск, Россия

Актуальность. Проблема сохранения фертильности после цитостатической химиотерапии в онкологической клинике является актуальной в связи с увеличением коли-



чества пациентов, имеющих благоприятный прогноз заболевания. К числу препаратов существенно снижающих продуктивность сперматогенеза принадлежит паклитаксел. Цель. Изучить механизмы повреждающего действия паклитаксела на семенники крыс и оценить фармакологические возможности его снижения. Материал и методы. Исследования проведены на крысах-самцах Вистар ($n=95$). Состояние сперматогенеза и репаративной регенерации семенников оценивали по количеству половых клеток, сперматогоний, клеток микроокружения, и степени зрелости сперматогенного пласта. Количество предшественников сперматогенеза, секреторную активность клеток Сертоли определяли методом оценки колониеобразующей способности. Статистический анализ проводили с помощью U критерия Манна-Уитни. Результаты. Введение паклитаксела приводило к сокращению численности клеточной популяции сперматогоний, длительному угнетению продуктивности сперматогенеза. Регенераторная способность тестикулярной ткани снизилась. В основе повреждающего эффекта паклитаксела на семенники лежит прямое токсическое действие на регионарные прекурсоры, а так же угнетение секреторной активности локального аппарата клеток микроокружения, регулирующих процессы их пролиферации. Способности к репаративной регенерации семенника возрастала на фоне фармакологической стимуляции функций эндогенных стволовых клеток, а также использования препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами. Выводы: 1- паклитаксел повреждает стволовые сперматогонии и снижает функциональную активность клеток микроокружения, регулирующих пролиферацию региональных прекурсоров; 2- пегелированный гранулоцитарный колониестимулирующий фактор и антиоксидант полифенольной природы пара-тирозол существенно повышают регенераторные возможности семенника.

СВОЙСТВА МЫШЕЧНЫХ АЛЛОПЛАНТОВ ОТ ПОГИБШИХ КРЫС-ДОНОРОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕ-НЕ ЛАЗЕРА НА ОБЛАСТЬ АЛЛОПЛАСТИКИ У РЕЦИПИЕНТА

Булякова Н.В., Азарова В.С.

ФГБУН «ИПЭЗ им. А.Н.Северцова РАН»,

Ранее на старых крысах мы показали, что облучение He-Ne лазером икроножных мышц у погибшего донора влияло на их биологические свойства, что выражалось в различной скорости перестройки / резорбции имплантированной мышцы. Эффект зависел от связи мышц с организмом донора в момент облучения (облучение мышц в погибшей крысе или в чашке Петри). Цель данного исследования: определить, как изменяются свойства мышц, облученных лазером в организме погибших старых крыс-доноров, в условиях с дополнительным воздействием He-Ne лазера на область аллопластики у реципиентов до операции и после.

Крыс-доноров усыпляли и через 1.5–2 часа после остановки дыхания каждую заднюю конечность животного в области проекции икроножных мышц облучали одно-



кратно He-Ne лазером в течение 30 мин в дозе 4.5–5.4 Дж/см². Длина волны 632.8 нм, луч лазера был расфокусирован с помощью линзы, диаметр поля облучения 2–2.5 см, плотность мощности составляла 2.5–3 мВт/см². Затем мышцы оставляли на сутки в холодильнике при $t=+8^{\circ}$, а перед операцией их на 2 часа помещали в термостат при $t=+38^{\circ}$. Крысы-реципиенты были из других гнезд. Опыт-1: мышцы имплантировали в ложе удаленных икроножных мышц реципиента, у которого обе голени подвергались до операции лазерному облучению в течение двух недель (10 сеансов по 3 мин, суммарно в дозе 4.5–5.4 Дж/см²). Опыт-2: лазеротерапия уже оперированных конечностей реципиента в такой же суммарной дозе и режиме воздействия.

В опыте-1 через 30 суток резорбция аллоплантов не завершена. Между мышечными головками сохранялись широкие продольно ориентированные септы. Процесс перестройки начинался с основания аллопланта, где было больше соединительной ткани, резорбированной мышечной ткани и пустых сарколеммных трубок. Ближе к поверхности аллопланта отмечались широкие участки темно окрашенных ишемических мышечных волокон, еще не вовлеченных в процесс перестройки. С проксимального и дистального концов имплантированных мышц и вокруг не резорбированных мышечных фрагментов наблюдались скопления лимфоидных клеток и макрофагов, но они проникали в мышечные волокна крайне медленно. С проксимального края от небольшой культи реципиента в сторону аллопланта отрастали на короткое расстояние узкие мышечные волокна. В этой области было много лимфоидных клеток и макрофагов. В опыте-2 резорбция аллогенной мышечной ткани также начиналась с основания имплантата, но происходила активнее. Фрагменты темно окрашенных мышечных волокон встречались в верхних слоях аллопланта в меньшем количестве. Наблюдалась активная лимфоидная инфильтрация и множество макрофагов. На 30-е сут величина обеих мышечных головок имплантированных икроножных мышц уменьшалась. Между ними разрасталась соединительная и жировая ткань. По периферии мышечных головок среди темно окрашенных мышечных волокон встречались пустые сарколеммные трубки. Итак, при облучении лазером обеих голеней реципиента до аллопластики резорбция / перестройка аллогенной мышечной ткани происходила медленнее, чем при облучении голеней после операции.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОЖИ НА МОДЕЛИ ПОЛНОСЛОЙНОЙ КОЖНОЙ РАНЫ

БОЧАРОВА Т.В., ПАЮШИНА О.В., РАХМАНИНОВА Д.Д.,
БУТОРИНА Н.Н., БЕРЕЗИНА А.А., ШЕВЕЛЕВА О.Н., ДОМАРАЦКАЯ Е.И.

ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

Актуальность исследования. Среди методов лечения повреждений кожи особое место занимает клеточная терапия. По данным ряда исследований, перспективным ресурсом для нее являются мезенхимные стромальные клетки (МСК), однако их успеш-



ное применение требует поиска оптимальных условий доставки в область повреждения и выяснения механизмов оказываемого ими репаративного эффекта.

Цель настоящей работы – оценка влияния донорских МСК на заживление кожных ран в зависимости от источника клеток и способа их введения реципиенту.

Материалы и методы. Половозрелым крысам наносили полнослойные кожные раны и вводили аллогенные МСК из костного мозга, кондиционированную ими среду либо МСК из печени, селезенки или тимуса плодов крысы. Клетки инъецировали внутривенно, подкожно или внутрикожно либо наносили на поверхность раны. Контрольные раны обрабатывали средой без клеток или фибробластами из кожи плодов крысы. Биопсию ран проводили спустя 3–21 сут после их нанесения.

Результаты. Через 14 сут после повреждения выявлялась усиленная васкуляризация грануляционной ткани под влиянием местно введенных МСК из всех изученных источников. В некоторых случаях введение МСК ускоряло эпителизацию раны; по предварительным данным, этот эффект был наиболее выражен для клеток из селезенки плодов. Комплексная оценка состояния ран при различных способах введения МСК костного мозга показала, что наилучший результат дают их подкожные инъекции в дно раны. Отмечен также терапевтический эффект инъекций кондиционированной МСК среды, приводивших к уменьшению воспаления и ускорению регенерации.

Выводы.

1. МСК как из эмбриональных, так и из дефинитивных источников способствуют заживлению раны главным образом за счет стимуляции ангиогенеза.
2. Для доставки МСК в рану наиболее эффективны подкожные инъекции.
3. Регенерация кожи может быть стимулирована введением не только МСК, но и кондиционированной ими среды.

ГЕН-АКТИВИРОВАННЫЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ – НОВЫЙ ТРЕНД В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Бозо И.Я.^{1,2,3}, Дробышев А.Ю.², Рожков С.И.², Воложин Г.А.²,
Комлев В.С.⁴, Исаев А.А.¹, Деев Р.В.^{1,5}

1 – ПАО «Институт Стволовых Клеток Человека», Москва

2 – ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», Москва, Россия

3 – ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, Россия

4 – ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова» Российской академии наук, Москва, Россия

5 – ФГАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

Актуальность. Разработка активированных (оптимизированных) остеопластических материалов продиктована высокой частотой выполнения костнопластических операций



и недостатками внедренных в клиническую практику медицинских изделий.

Цель. Разработать ряд вариантов ген-активированных костных графтов (ГАКГ) из различных носителей и плазмидной ДНК с геном, кодирующим сосудистый эндотелиальный фактор роста (pl-VEGF), внедрить в клиническую практику наиболее оптимальный.

Материал и методы. Для создания ГАКГ использовали pl-VEGF (“Неоваскулген” (ИСКЧ, Россия)) и три варианта носителей: композитный материал из коллагена и гидроксиапатита, ксеногенный депротеинизированный костный матрикс, октакальциевый фосфат (ОКФ). Материалы исследовали в ортотопических условиях – в модели замещения костных дефектов критических размеров (10 мм), в качестве контроля использовали носители без pl-VEGF.

Результаты. На всех сроках наблюдения: от 15 до 120 сут. – все варианты ГАКГ индуцировали формирование костного регенерата даже в центральной части дефекта, тогда как в контроле материалы обладали лишь остеокондукцией. Консолидация на крайних сроках наблюдалась только в случае ГАКГ.

Вывод. pl-VEGF позволяет разработать ген-активированные материалы с выраженными остеоиндуктивными свойствами.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Бузян Л.О., Рябинин В.Е.

ООО «Центр Клеточных Технологий», Челябинск; ГБОУ ВПО «ЮУГМУ»
Минздрава РФ, Челябинск, Россия

Рассеянный склероз – самое распространенное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы, имеющее мультифакторный патогенез, поражающее преимущественно лиц молодого трудоспособного возраста и быстро приводящее к инвалидизации, что становится значительной медицинской и социальной проблемой. Значимость этой проблемы усугубляется недостаточной эффективностью всех известных на сегодняшний день методов терапии, которые отличаются очень высокой стоимостью, необходимостью длительного (практически постоянного) применения и эффективны далеко не у всех больных рассеянным склерозом, что обуславливает необходимость поиска новых более эффективных методов терапии. Одним из таких перспективных, и в тоже время патогенетически направленных методов лечения рассеянного склероза, является терапия с использованием стволовых клеток. Оценка эффективности и безопасности применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) плаценты человека в терапии больных с рассеянным склерозом была проведена у 12 больных с установленным в условиях стационарного обследования диагнозом рассеянный склероз, подтвержденным МРТ головного мозга, в возрасте от 22 до 48 лет, с дебютом заболевания в период от 9 мес. до 22 лет



к моменту включения в исследование, и наличием функционального неврологического дефицита. Все исследования, начиная с получения материала и заканчивая непосредственным проведением клеточной трансплантации, проводились с соблюдением существующих правовых, юридических и этических норм Российской Федерации. Одноразовое внутривенное введение 5 млн. МСК плаценты показало хорошую переносимость процедуры, сохранение стабильного, без признаков прогрессии, неврологического состояния у 60% больных, уменьшение пареза центрального типа и вестибулярных нарушений – у 50%, тазовых нарушений и зрительных расстройств – до 40% через 6 месяцев после введения. Полученные предварительные результаты свидетельствуют о положительной динамике (различной выраженности) состояния функций нервной системы большинства пациентов и эффективности терапии.

25-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕРМАЛЬНОГО ЭКВИВАЛЕНТА: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Блинова М.И., Никольский Н.Н., Михайлова Н.А.

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Институт цитологии РАН представляет для обсуждения 25-летний опыт работы по созданию клеточных технологий: разработке клеточных продуктов, их регистрации, получению разрешения на клиническое использование и применению в практической медицине. Приобретенный Институтом опыт может быть полезен для разработчиков клеточных продуктов, ввиду отсутствия до настоящего времени в РФ четкого правового регулирования и процедуры внедрения технологий в медицинскую практику. Актуальность использования клеточных продуктов в медицине не вызывает сомнений. В зарубежных странах законодательство в этой области постоянно регулируется, начиная с 2001 г., а с 2011 г. наблюдается повышение лояльности и стимулирование разработок и клинических исследований.

Разработка клеточных продуктов в ИНЦ РАН начата в 1991 г. по заказу ГВМУ МО РФ «Биотехнологическое моделирование живой человеческой кожи с целью лечения критических и сверхкритических ожогов». Работа была выполнена к 2000 г., получены три клеточных продукта, включая «Эквивалент дермальный, ЭД». Для серийного производства и клинического применения была разработана и утверждена нормативно-техническая документация, методики, проведены испытания, включая клинические (в трёх независимых клиниках) и получено разрешение на серийное производство и клиническое применение на 2006–2011 г.г. За этот период получили лечение более 500 пациентов, приготовлено 22 000 кв. см дермального эквивалента, продукт показал высокую эффективность при заживлении ожогов и трофических язв.

Институт цитологии РАН создает биотехнологическое производство дермального эквивалента по стандартам GMP, автоматическим культивированием клеток для стандартизации продукта и криобанком клеток кожи в качестве источника материала. Запуск производства для нужд профильных клиник Санкт-Петербурга и Северо-Западного реги-



она планируется в 2016 году. Важно принятие Законопроекта «Об обращении биомедицинских клеточных продуктов» для ускорения развития биомедицинских технологий в России, так необходимых пациентам.

О КЛЕТЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ ЛЕЧЕНИЯ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ НОГ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ

ВАСИЛЕВИЧ И.Б.¹, БАРАНОВ Е.В.², ПИНЧУК С.В.¹, ТРЕТЬЯК С.И.²,
ВОЛОТОВСКИЙ И.Д.¹

1 – ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

2 – УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

Приоритетным направлением современной медицины является разработка технологий восстановительной терапии кожных дефектов, в частности трофических язв (ТЯ), с использованием аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Традиционно применяемые методы в лечении ТЯ достаточно часто не приносят положительного результата. В связи с этим нами была проведена оценка эффективности применения МСК жировой ткани (ЖТ) в комплексном лечении ТЯ ног. Выполнено 29 локальных ауто-трансплантаций МСК ЖТ 15-ти пациентам в возрасте от 27 до 75 лет с диагнозом ТЯ различной этиологии, с продолжительностью безуспешного периода лечения от 2-х месяцев до 5-и лет (в 10-и случаях проведена двойная, в 2-х – тройная трансплантация МСК). Применялась комплексная технология, которая состояла из нескольких этапов: забор ЖТ; выделение МСК из ЖТ; культивирование и накопление клеточной биомассы; санация ТЯ; выполнение метода локального введения МСК; посттрансплантационное наблюдение за течением раневого процесса. Предтрансплантационный период включал подготовку язвенного дефекта, направленную на переход из фазы воспаления в грануляционную фазу. Трансплантацию МСК (1 – 10 млн. клеток) выполняли путем сочетанного нанесения клеточной суспензии на поверхность раны и интрадермального введения по периферии раневой поверхности. Кратность пересадок зависела от размера раневого дефекта, а также положительным ответом на применяемую методику. Оценку состояния трофических дефектов в процессе лечения проводили по данным цитологического, планиметрического и ультразвукового исследований. Основными критериями заживления ТЯ служили скорость и сроки эпителизации раны. Полное устранение язвенного дефекта после трансплантации аутологичных МСК ЖТ наблюдалось у 9 пациентов, у 3 – значительное уменьшение площади раны, и у 3 пациентов отмечались незначительные улучшения. В целом, результаты проведенного анализа свидетельствуют о безопасности и высокой эффективности клинического применения метода трансплантации аутологичных МСК ЖТ для терапии трофических язв.



ПОСТНАТАЛЬНЫЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ-ПРОИЗВОДНЫЕ НЕРВНОГО ГРЕБНЯ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Васильев Р.Г.^{1,2}, Родниченко А.Е.^{1,2}, Лысенко А.С.³,
Рыбачук О.А.^{1,2}, Демидчук А.С.³, Шамало С.Н.³,
Зубов Д.А.^{1,2}, Клименко П.П.¹, Губарь О.С.², Злацкая А.В.^{1,2},
Лабунец И.Ф.¹, Новикова С.Н.¹, Чайковский Ю.Б.³,
Бутенко Г.М.¹

1 – Институт генетической и регенеративной медицины НАМНУ,
Киев, Украина

2 – Биотехнологическая лаборатория ilaya.regeneration, Киев,
Украина

3 – Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца,
Киев, Украина

В последнее десятилетие было показано существование постнатальных мультипотентных стволовых клеток – производных нервного гребня (МСК-ПНГ). Исследование возможностей использования МСК-ПНГ в регенеративной медицине является актуальной задачей.

Цель работы: исследовать терапевтический потенциал МСК-ПНГ на экспериментальных моделях *in vivo* и *in vitro*.

Материалы и методы: МСК-ПНГ были получены из региона bulge волосяного фолликула вибрисс мышей линии FVB трансгенных по GFP. Для создания 3D конструкций использовали фибриновый гель и его комбинацию с гранулами костнозамещающего материала (ксеногенная кость и ГА-βТКФ). Терапевтический потенциал МСК-ПНГ был исследован в следующих экспериментальных моделях: перерезки седалищного нерва, дефекта костей черепа критического размера и кислородно-глюкозной депривации (КГД) органотипической культуры гиппокампа.

Результаты. МСК-ПНГ стимулируют репаративную регенерацию седалищного нерва, что подтверждено морфометрическим анализом и функциональными тестами. Трансплантация 3D конструкций с МСК-ПНГ в область дефекта черепа критического размера привела к полному восстановлению костной ткани. МСК-ПНГ при трансплантации на органотипическую культуру гиппокампа после КГД оказывали нейропротекторное действие на нейроны зоны CA1, но не дифференцировались в клетки ЦНС в данные сроки наблюдения (14 суток).

Выводы. МСК-ПНГ обладают большим потенциалом к использованию в регенеративной медицине за счет способности к мультилинейной дифференциации с последующей структурной интеграцией и значительного трофического паракринного эффекта.



КУЛЬТИВИРОВАНИЕ СПЕРМАТОГОНИЙ ХРЯКА В МЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЕ

ВАСИЛЬЕВА С.А., САВЧЕНКОВА И.П.

ФГБНУ ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко, Москва, Россия

Актуальность. В настоящее время ведутся исследования по созданию ткани семенника в трехмерной системе *in vitro*. В качестве компонента 3D-матрицы используются различные материалы, в том числе метилцеллюлоза.

Цель. Оценить роль совместного культивирования сперматогоний и соматических клеток в метилцеллюлозе.

Материалы и методы. В качестве объекта использовали сперматогонии, выделенные из тестикул неполовозрелых помесных 40-сут хряков. 3D-матрица представлена структурой, состоящей из верхнего (мягкого) и нижнего (твердого) слоев, приготовленных из 2,5% и 5% растворов метилцеллюлозы соответственно. Были сформированы две экспериментальные группы. В первой группе верхний слой матрицы был представлен очищенной, а во второй – неочищенной популяцией сперматогоний (1×10^5 кл.). Очистку сперматогоний от других клеточных типов проводили, используя прерывистые градиенты Перколла с последующим разделением по адгезии. Степень дифференцировки оценивали визуально по морфологии как в нативных препаратах, так и в приготовленных и окрашенных по Гимза мазках. Уровень пролиферации определяли по приросту клеток, а жизнеспособность по окраске трипановым синим.

Результаты и обсуждение. В результате анализа полученных данных установлено, что сперматогонии в обеих экспериментальных группах оставались жизнеспособными вплоть до 21 сут. Сравнительный анализ выявил значительные различия между экспериментальными группами. Так в 1 группе сперматогонии размножались без признаков дифференцировки и к 14 сут их численность удваивалась. Во второй экспериментальной группе наряду с увеличением общего числа клеток, наблюдали процесс дифференцировки, который сопровождался на 7 сут образованием цепочек клеток, тяжей и формированием семенных канальцев на 14 сут.

Таким образом, можно сделать вывод, что совместное культивирование сперматогоний и соматических клеток в трехмерной системе, представленной метилцеллюлозой, способствует образованию ткани семенника в 3D *in vitro*.



ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНДУЦИ- РОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С ИСПРАВЛЕННЫМ ГЕНОТИПОМ В ОБЛАСТИ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НА МОДЕЛИ КРЫС ЛИНИИ BRATTLEBORO

ВАСЬКОВА Е.А.^{1,2,3}, МЕДВЕДЕВ С.П.^{1,2,3,4}, ШЕРСТЮК В.В.^{1,2,3},
НЕМУДРЫЙ А.А.^{1,2,3}, СОРОКИНА А.Е.^{1,2,3}, ЕЛИСАФЕНКО Е.А.^{1,2,3},
ИВАНОВА Л.Н.¹, ЗАКИЯН С.М.^{1,2,3,4}

1 – ФИЦ ФГБУ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия,

2 – НИИПК им. ак. Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, Россия,

3 – ФГБУ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

4 – Новосибирский государственный университет

Одним из наиболее перспективных направлений в современной биомедицине является клеточная терапия заболеваний, вызванных генетическими нарушениями. Развитие технологии получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) в совокупности с новыми эффективными методиками редактирования генома (TALEN, CRISPR/Cas9) позволяет создать высоковоспроизводимую и универсальную систему для исправления генетических мутаций и использовать такие клетки с исправленным генотипом в области заместительной клеточной терапии.

Данная работа посвящена, главным образом, оценке возможностей и эффективности использования ИПСК с исправленным генотипом в области заместительной клеточной терапии с использованием в качестве модельного животного крыс линии Brattleboro. Данная линия крыс несет мутацию в гене вазопрессин-аргинина, что проявляется в виде развития наследственного несахарного гипоталамического диабета. Преимуществом использования такого подхода является его универсальность, поскольку он может быть использован для широкого спектра генетических заболеваний, а результаты транслированы на человека.

Работа поддержана грантом РФ 14-14-00271



ПОЛУЧЕНИЕ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ БОЛЕЗНЕЙ МОТОРНЫХ НЕЙРОНОВ НА ОСНОВЕ ПЛЮРИПО- ТЕНТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

ВАЛЕТДИНОВА К.Р., УСТЬЯНЦЕВА Е.И., МЕДВЕДЕВ С.П.,
ЗАКИЯН С.М.

ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск,
Россия

Актуальность. Важнейшей проблемой при изучении болезней моторных нейронов (БМН), таких как боковой амиотрофический склероз (БАС) и спинальная мышечная атрофия (СМА), является отсутствие адекватных модельных систем. Для решения этой проблемы в настоящее время создаются клеточные модельные системы на основе индуцированных плюрипотентных клеток человека (ИПСК), которые способны адекватно воспроизводить особенности заболевания у конкретного пациента. Кроме того, развивается направление, связанное с использованием систем редактирования генома TALEN и CRISPR/Cas9 для получения изогенных клеточных моделей.

Цель работы: получение и характеристика модельных систем бокового амиотрофического склероза и спинальной мышечной атрофии на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека.

Материалы и методы. С помощью методов молекулярного клонирования собраны векторы, экспрессирующие компоненты систем TALEN и CRISPR/Cas9. Анализ эффективности действия полученных систем проводился в клетках HEK293 двумя методами – секвенированием по Сэнгеру и анализом T7EI. Для выявления редких мутационных событий использовалось таргетное секвенирование ПЦР-продуктов NGS. ИПСК получали из фибробластов с помощью эписом, несущих факторы репрограммирования. Характеристика линий включала стандартные тесты.

Результаты. Получены векторные конструкции, экспрессирующие компоненты систем TALEN и CRISPR/Cas9, которые эффективно вносят разрывы в 8 точек нуклеотидной последовательности гена SOD1, а также подобран индивидуальный дизайн донорных для гомологической рекомбинации молекул – одноцепочечных ДНК-олигонуклеотидов. Получены линии ИПСК, демонстрирующие генотип СМА I и II типа, а также контрольные линии, не несущие мутации в гене SMN1.

Выводы. Таким образом, была получена система для внесения 11 миссенс-мутаций в ген SOD1, ответственный за развитие наследственной формы БАС. Получены и охарактеризованы 6 линий ИПСК от пациента со СМА I типа.



МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ПУЛЬПЫ МОЛОЧНОГО ЗУБА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

ВАХРУШЕВ И.В.¹, КОМЛЕВ В.С.², ФЕДОТОВ А.Ю.²,
ПОПОВ В.К.³, АНТОНОВ Е.Н.³, МИРОНОВ А.В.³, СУББОТ А.М.⁴,
НОВИКОВ И.А.⁴, ЯРЫГИН К.Н.¹

1 – ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»,

2 – ФГБУ «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук», Россия, Москва

3 – ФГБУН «Институт проблем лазерных и информационных технологий Российской академии наук», Россия, Москва

4 – ФГБНУ «НИИ Глазных болезней», Россия, Москва

Работа посвящена разностороннему изучению свойств мезенхимальных стволовых клеток (МСК) пульпы молочного зуба человека, а также разработке технологий их использования в регенеративной медицине.

Из пульпы молочных зубов различных доноров были выделены первичные культуры мезенхимальных клеток. Клетки всех культур обладали сходной фибробластоподобной морфологией и характерным для МСК фенотипом CD29+, CD34-, CD44+, CD45-, CD49b+, CD73+, CD90+, HLA-DR-. При этом были обнаружены индивидуальные различия в пролиферативной и миграционной активности клеток, полученных от различных доноров. Далее была продемонстрирована способность клеток к дифференцировке в различных направлениях. После культивирования в адипогенной среде в клетках наблюдалось накопление жировых вакуолей, а в результате хондрогенной дифференцировки – продукция межклеточного вещества, характерного для хрящевой ткани. При индукции остеогенеза в культурах появлялись локусы окостенения с отложениями минерализованного матрикса, а также возрастала активность щелочной фосфатазы.

На основе полученных культур МСК пульпы молочного зуба, а также композитных минерал-полимерных скаффолдов, изготовленных с применением различных технологий трёхмерной печати, были получены экспериментальные образцы тканеинженерных конструкций. Исследования состояния и поведения клеток в условиях продолжительного трёхмерного культивирования на скаффолдах осуществляли при помощи биохимических методов, а также с применением конфокальной и сканирующей электронной микроскопии. Результаты позволили сравнить биологические свойства разрабатываемых биоматериалов и оценить *in vitro* возможность их медицинского применения. Также было проведено пилотное исследование поведения клеток в условиях трансплантации *in vivo*. Меченые флуоресцентными частицами МСК вводили в головной мозг крысам, спустя 3 дня после чего наблюдали их инкорпорацию в ткань реципиента, окружавшую зону введения.

Таким образом нами было показано, что пульпа молочного зуба является доступным источником МСК, которые могут быть использованы как в терапевтических целях в качестве клеточного материала для тканевой инженерии, так и в экспериментальных исследованиях при оценке свойств биоматериалов и действия лекарственных средств.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант НК 13-04-12073).



ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ, ВЫДЕЛЕННОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМЫ «MINISTEM»

ВЕРЕМЕЕВ А.В., ПЕТКОВА М.А., ГРЕЦОВ Е.М., БОЛГАРИН Р.Н.,
КАЦ Н.Г.

ООО «ДжоинТекСэлл», Москва, Россия

Актуальность. После открытия регенераторного потенциала стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ) появилось значительное число работ, направленных на разработку новых подходов к автоматизации процесса ее выделения. В то же время существует ряд ограничений, связанных с эффективностью автоматизированных систем, жизнеспособностью и качеством клеточного продукта.

Цель. Оценка фенотипа и жизнеспособности стромально-васкулярной фракции жировой ткани человека, выделенной с использованием системы miniSTEM.

Материалы и методы. Исследования проводили на 3 образцах липоаспирата, полученных в результате операции по липосакции. Клетки изолировали по оригинальной методике (WO 2014/011213A1). Оценка жизнеспособности проводили с использованием набора AnnexinV-FITC Kit (Becton Dickinson Bioscience USA). Иммунофенотипическую характеристику фракции проводили на цитофлюориметре Accuri C (Becton Dickinson Bioscience USA) с использованием моноклональных антител (CD105, CD73, CD90, CD45, CD34, CD11b, CD19, HLA-DR, CD44).

Результаты. Результаты эксперимента показали, что из выделенной фракции клетки лимфоцитарно-моноцитарного ряда составили 91,8%, а целевая регенераторная фракция СВФ – 7,5%. Общая концентрация клеток стромально-васкулярной фракции в образце составила 66 000 клеток на 100 мкл. СВФ содержит 20% CD90+, 0,24% CD105+ и 0,01% CD44+. Важно заметить, что экспрессия эндоглина (CD 105) в основном характерна для МСК после пассирования, однако данный маркер может экспрессироваться и на прогениторных клетках – «мезенхимоангиобластах». Результаты аннексинового теста показали, что в исследуемой фракции клеток 1,02% находится в состоянии апоптоза, 0,04% некротизированных и 98,94% живых клеток.

Заключение. Система miniSTEM позволяет выделять клеточную фракцию, характеризующуюся высокой выживаемостью, высоким содержанием ядросодержащих клеток и клеток предшественников.



МОЧА, КАК ИСТОЧНИК СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ МОЧЕВЫВО- ДЯЩИХ ПУТЕЙ

Васютин И.А., Люндуп А.В., Кузнецов С.Л.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России,
Москва, Россия

Актуальность: тканевая инженерия мочевыводящих путей требует получения как минимум двух типов клеток – гладкомышечных и эпителиальных. Обычно это требует биопсии мочевого пузыря, что является болезненной и инвазивной процедурой. Известно, что в норме моча содержит малое количество клеток. Ранее было показано, что часть клеток в моче способна к пролиферации, и эти клетки могут быть эффективно культивированы *in vitro*.

Цель: выделить и охарактеризовать клетки в моче, а также оценить возможность использования их в тканевой инженерии мочевыводящих путей.

Материалы: свежие образцы мочи 20 доноров, среда KSFM и DMEM/F12 с добавлением факторов EGF, PDGF-BB, TGF- α , icelligenceTM, набор антител для покраски МСК, антитела к actin, desmin, cytokeratin.

Результаты: было получено 40 образцов мочи от здоровых добровольцах. Их моча была отцентрифугирована, осадок рассаживали на смешенную среду KSFM с DMEM/F12 с добавлением фактора EGF. Первые клоны клеток обнаруживались через неделю после культивирования. При достижении достаточного количества клетки проверяли на экспрессию маркеров МСК и гемопоэтические стволовые клетки. Клетки показали высокую экспрессию маркеров МСК, в то же время они были CD45-, CD34-, CD14-, CD79a-негативными. На основании оценки кривых роста среднее время удвоения популяции составило 20 часов. После 2 недель культивирования была проведена дифференцировка полученных клеток в гладкомышечные клетки и клетки уротелия с использованием факторов роста. Результаты иммуноцитохимии, полученных в результате дифференцировки, клеток показали их принадлежность к эпителию мочевыводящих путей и к гладкомышечным клеткам, в зависимости от условий дифференцировки.

Выводы: Было показана возможность получения стволовых клеток, сходных по своим характеристикам с МСК, из мочи. Эти стволовые клетки могут быть дифференцированы в клетки уротелия и гладкомышечные клетки. В дальнейшем эти два типа клеток могут быть использованы в создании двуслойной тканеинженерной конструкции уретры.



ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ PPARA В КАРДИАЛЬНЫХ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ И МЕТАБО- ЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ ПРИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.

Воронова А.Д.^{1,2}, Куликова Т.Г.¹, Степанова О.В.¹,
Валихов М.П.¹, Самко А.Н.¹, Терещенко С.Н.¹, Масенко В.П.¹

1 – ФГБУ «РКНПК», Москва, Россия, Москва,

2 – ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия, ул. Остро-
вительнова, д. 1

Актуальность. К сердечной недостаточности (СН) чаще всего приводит дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), связанная с гибелью большого числа кардиомиоцитов. В регенеративных кардиальных процессах при СН, направленных на восстановление функциональных кардиомиоцитов, могут участвовать дедифференцированные и резидентные прогениторные кардиомиоциты, являющиеся конечной стадией дедифференцировки. Известно, что при СН происходит изменение кардиального энергетического метаболизма, главным регулятором которого является фактор транскрипции PPARA (рецептор, активируемый пролифератором пероксисом). Вероятно, изменение кардиального энергетического метаболизма при ДКМП и сердечной недостаточности может приводить к дедифференцированному состоянию кардиомиоцитов и активации регенеративных процессов.

Цель. Оценить значение фактора транскрипции PPARA в кардиальных регенеративных и метаболических процессах при сердечной недостаточности.

Материалы и методы. В работе было использовано 11 эндомикардиальных биоптатов, полученных от пациентов с диагнозом ДКМП и СН, и 5 аутопсийных образцов миокарда человека без сердечно-сосудистых заболеваний. Для выявления дедифференцированных кардиомиоцитов был использован метод электронной микроскопии. Резидентные прогениторные кардиомиоциты были обнаружены с помощью метода иммунофлуоресценции. Уровни экспрессии PPARA и его генов-мишеней были определены методом ПЦР в реальном времени.

Результаты: При ДКМП были выявлены дедифференцированные и резидентные прогениторные кардиомиоциты по одновременной экспрессии маркеров стволовых клеток c-Kit и Mdr-1, и маркеров ранней кардиомиоцитарной дифференцировки Nkx-2.5 и GATA-4. Было установлено, что при ДКМП наблюдается значительное снижение уровней экспрессии по сравнению с нормой генов PPAR α , LCAD, CPT, CD36, изменение уровня экспрессии PGC1 α было незначительным, а уровень экспрессии NFABP увеличивался. Выводы: Понижение уровней экспрессии PPAR α и его генов-мишеней LCAD, CPT-1, CD36 при СН свидетельствует о переходе энергетического метаболизма с использования насыщенных жирных кислот на использование глюкозы. Переход от окислительного метаболизма к гликолизу позволяет клетке перейти в дедифференцированное и прогениторное/стволовое состояние. Основной регулятор энергетического метаболизма PPAR α представляет собой новую мишень в области регенерации клеток и тканей. Воздействие на него



с помощью известных лигандов дает возможность влиять на процессы дедифференцировки/редифференцировки кардиомиоцитов и регенерации миокарда при ДКМП и сердечной недостаточности.

ВЛИЯНИЕ ГЛУТАМИЛ-ТРИПТОФАНА НА ПРОЦЕСС ЗАЖИВЛЕНИЯ РАНЫ НА МОДЕЛИ НЕЗАЖИВАЮЩЕЙ РАНЫ У КРОЛИКОВ

Воронкина И.В.¹, Шевцов М.А.^{1,2}, Смагина Л.В.¹,
Кудрявцева Т.А.³, Петленко С.В.³

1 – ФГБНУ ИНЦ РАН, Санкт-Петербург;

2 – ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, Санкт-Петербург;

3 – ЗАО «МБНПК «ЦИТОМЕД», Санкт-Петербург;

Актуальность. Лечение длительно незаживающих ран представляет важную медицинскую проблему, которая полностью не решена. Известно, что исследуемый препарат L-Glu-L-Trp-ONa, субстанция коммерческого препарата тимоген (ГТ), оказывает модулирующее влияние на метаболические процессы в клетках, стимулирует функциональную активность клеток иммунной системы и процессы регенерации тканей, ускоряет заживление ран, активизирует функции клеток соединительной ткани, эндотелиоцитов, макрофагов и лейкоцитов в очаге повреждения, ингибирует синтез гистамина и серотонина при воспалении.

Цель данного исследования – изучить влияние дипептида (Glu-Trp-ONa) на процесс эпителизации на модели незаживающей дермальной раны *in vivo*.

Материалы и методы: эксперименты проводили на здоровых кроликах, моделируя незаживающую неэпителизируемую рану и вводя препараты внутривенно в течение всего эксперимента (24 сут). В качестве негативного контроля использовали физиологический раствор, а в качестве положительного контроля – Актовегин® 0,8 мл/кг. Опытной группе вводили ГТ в дозе 0,04 мг/кг. Общий срок наблюдения во всех группах – 24 дня. перевязки проводили каждые 3 суток, сбор раневого отделяемого для анализа проводили при моделировании раны (0 сутки), при каждой перевязке и при выведении животных из опыта (на 24 сутки). По динамике активности ММП (1, 2, 8, 9) судили о ходе процесса заживления раны. После выведения животных из опыта дальнейшую оценку состояния тканей раны осуществляли по гистологическим образцам тканей дна раны, полученным на 24 сутки после моделирования. Гисто-морфометрическое исследование было проведено для 3 экспериментальных групп и охватывало 9 животных (36 образцов ран). Проводили описательную микроскопию, оценивая изменение площади раны, состояние грануляционной ткани дна раны, а также проводили количественные морфологические исследования.

Результаты. Введение ГТ статистически значимо уменьшало время заживления ран по сравнению с Актовегином. Зимотографический анализ показал, что введение ГТ повы-



сило активность желатиназ (ММП 2, 9) на ранней воспалительной фазе, и уменьшило ее в фазе ремоделирования. Активность коллагеназ (ММП 1, 8) дипептид снижал только в фазе ремоделирования. Гистологический анализ тканей раны подтвердил ускоренное образование грануляционной ткани и реэпителизацию у животных, получавших ГТ.

Выводы. Полученные результаты позволяют утверждать, что использование глутамил-триптофана изменяет процессы заживления раны и улучшает их результаты.

ПРИНЦИПЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОДУКТОВ КЛЕТОЧНЫХ И ТКАНЕВЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Волова Л.Т., Долгушкин Д.А., Гильмутдинова И.Р.,
Филимонов К.А.

Институт экспериментальной медицины и биотехнологий ГБОУ ВПО
СамГМУ Минздрава России, г. Самара (csrl.sam@mail.ru)

Регенеративная медицина – это медицина будущего, позволяющая использовать резервные возможности человеческого организма, восстанавливать собственные ткани и органы после их повреждения и разрушения. На основании результатов многолетних исследований в области тканевых и клеточных биотехнологий нами сформированы основополагающие принципы, обеспечивающие успешную регенерацию тканей: гетеротопический принцип получения клеточного материала, принцип альтерации зон региональных стволовых клеток при выполнении операций и принцип интеграции биоматериала в ткани реципиента. Гетеротопический принцип получения клеточного материала реализуется во время хондропластики, когда используют аналогичную по гистологической структуре, но взятую из другой топографической зоны гиалиновую хрящевую ткань ребра. Для купирования лимфостаза нижних конечностей при лимфодеме используют трансплантацию клеток, полученных методом культивирования из интактных лимфатических узлов шеи. Принцип альтерации зон региональных стволовых клеток важен, так как без повреждения не бывает регенерации. После экстракции зуба для восстановления анатомической целостности челюсти выполняют микрофрактурирование кортикальной пластинки лунки зуба для проникновения в зону пластики стволовых клеток из прилежащей ретикулофиброзной ткани. После ранней некрэктомии глубоких ожогов кожи, дном раны и ложем для пластического материала оставляют гиподерму – источник стволовых клеток для регенерации кожи. Таким образом, обеспечивается полноценное участие полипотентных стволовых клеток в общем регенераторном процессе, что несомненно повышает его интенсивность и качество. Принцип интеграции биоматериала с тканями реципиента реализуют путем разработки правильной техники выполнения тех или иных хирургических операций. Фиксация имплантируемого материала, его форма, размер, контакт с прилежащими тканями – всё это играет решающую роль в обеспечении последующей интеграции имплантатов и регенерации тканей. Соблюдение принципов регенеративной медицины при выполнении хирургических вмешательств обеспечивает в итоге формирование орга-



нотипичной ткани на месте повреждения. Подтвержденные многочисленными исследованиями *in vivo* и *in vitro* принципы регенеративной медицины позволяют нам успешно разрабатывать инновационные медицинские средства, новые реконструктивные операции и успешно внедрять их в практическое здравоохранение.

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ОЦЕНКА МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ЛОСКУТАХ ПРИ МЕСТНОЙ КОЖНОЙ ПЛАСТИКЕ ПОСЛЕОЖОГОВЫХ РУБЦОВ С ПОМОЩЬЮ ТЕПЛОВИДЕНИЯ

Воловик М.Г., Короткова Н.Л.

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» МЗ России, Нижний Новгород, Россия

Актуален поиск высокоинформативных методов визуализации, малозатратных по времени и не требующих дорогостоящей аппаратуры, которые могли бы быть использованы для диагностики и прогноза не только на до- и послеоперационном этапах лечения, но и в операционной. В реконструктивно-пластической хирургии тепловизионный метод уже зарекомендовал себя при решении подобного рода задач [Короткова, Воловик, 2015].

Целью данного исследования явилась тепловизионная оценка состояния микроциркуляции в рубцовых лоскутах при местной кожной пластике у больных с последствиями ожогов.

Обследовано 10 больных с послеожоговыми рубцами различной локализации на этапах реконструктивно-восстановительного лечения: до операции, интраоперационно при местной кожной пластике и в ближайшем послеоперационном периоде. Для планирования раскройки использовали ранее запатентованную технологию [RU Patent 2560908, 2015]. Интраоперационно проводилось ИК картирование лоскутов с помощью тепловизора Thermo Tracer TH-9100 (Nec, Япония) двукратно: сразу после окончания хирургических манипуляций и через 1 минуту. После операции проводилось мониторинг состояния кровоснабжения лоскутов во время перевязок.

Продемонстрирована ценность тепловизионного метода в панорамной оценке функционального состояния кровоснабжения лоскутов. Дооперационное обследование с функциональной пробой позволило выявить непригодные для пластики участки рубцовых тканей. Интраоперационная оценка раскроенных лоскутов дифференцировала их по уровню жизнеспособности в соответствии со степенью нарушения микроциркуляции, что позволяло предсказывать формирование краевого некроза в них. Динамика ИК-паттерна на поверхности лоскутов в ближайшем послеоперационном периоде позволила прогнозировать возможность выживания ишемизированных участков на ранних стадиях их развития.



РЕПАРАЦИЯ СЛИЗИСТОЙ ШЕЙКИ МАТКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЙОДОТИ- РОНИНОВ

ВЛАСЬЕВА О.В.¹, ГЛУШАКОВ Р.И.², ПРОШИН С.Н.³,
ТАПИЛЬСКАЯ Н.И.³

1 – ГУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург»,

2 – Военно-медицинская академия им.С.М.Кирова, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6;

3 – Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2.

Проблемы своевременной репарации эпителия слизистой шейки матки после лечения ВПЧ-ассоциированной цервикальной патологии высокотиражируемыми электрохирургическими методами, как и проблема персистенции папилломавирусной инфекции являются актуальными вопросами практической гинекологии. Сочетание иммуномодулирующего, заключающегося в усилении индукции гамма-интерферона (ИНФ) как одного из основных медиаторов противовирусной защиты, и пропролиферативного эффектов, опосредованного через дозозависимую способность некоторых йодотиронинов усиливать пролиферацию и ангиогенез, левотироксина делают его перспективным препаратом для адъювантного лечения ассоциированной с вирусом папилломы человека (ВПЧ) патологии шейки матки.

Цель исследования. Оценка эффективности и безопасности местного применения содержащего левотироксин геля у женщин с тяжелой и умеренной дисплазией шейки матки после хирургического лечения.

Материалы и методы. Нами было получены предварительные результаты наблюдательного исследования, в которое были включены женщины (n=16) в возрасте от 30 до 35 лет с тяжелой и умеренной дисплазией шейки матки. Другой гинекологической и/или соматической патологии перед включением в исследование по результатам углубленного обследования выявлено не было. Всем пациенткам на первом этапе лечения выполнялось петлевая электрохирургическая эксцизия, на втором этапе со второго дня после операции в течение 14 суток выполнялись аппликации желатинового геля (основа), содержащего 150 мкг левотироксина (РУП «Белмедпрепараты») в 1 мл, всей поверхности раны, разовый объем геля составил 3 мл. Всем пациенткам до начала лечения и на 16–21 с момента терапии выполнялось холтеровское суточное мониторирование (артериальное давление и электрокардиография), клинический и биохимический анализ крови, коагулограмма, определение уровня тиреотропного гормона и свободного тироксина. Идентификация ВПЧ с определением вирусной нагрузки, определение биоценоза генитального тракта методом «Фемофлор 16» выполнялось на этапе включения в исследование и через 28±4 дня после его начала. Определение ИНФ выполнялось методом иммуноферментного анализа на этапе включения и через 1–3 дня после его окончания.



Результаты. До начала лечения повышенная вирусная нагрузка ВПЧ отмечалась у 11 (68,8%) пациенток, значимая – у 5 (31,2%) пациенток. После лечения элиминация вируса была достигнута у 15 (93,8%) пациенток, у 1 (6,2%) пациентки отмечалась малозначимая вирусная нагрузка. Уровни ИФН в цервикальной слизи до и после лечения составили $1,6 \pm 0,8$ пг/мл и $5,4 \pm 1,1$ пг/мл соответственно ($p < 0,5$). У всех больных отмечалась хорошая переносимость геля, содержащего левотироксин, визуальное и морфологически отмечалось заметное купирование воспалительной реакции и появление к 9–12 суткам в большинстве случаев ярких грануляций, отчетливой активной краевой эпителизации. Побочных реакций при использовании левотироксин-содержащего геля не зафиксировано, достоверных различий при лабораторном и инструментальном исследовании до и после введения геля не выявлено.

Выводы. Местное лечение высокими дозами левотироксина за счет иммуномодулирующего и репаративного эффектов может быть эффективным в адьювантном лечении ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки.

ОСОБЕННОСТИ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА И КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГЕМОКОМПОНЕНТОВ В КОМБУСТИОЛОГИИ

Высочин И.В.^{1,2}, Борисов В.С.²

1 – Центр медико-биологических технологий, Москва, Россия

2 – ГБУЗ «НИИ Скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,
Москва, Россия

Гемокомпоненты на основе плазмы богатой тромбоцитами (ПБТ) применяют для репарации различного генеза (ожоговые раны, трофические и диабетические язвы, пролежни). Тромбоцитарный фактор роста и фибронектин ПБТ усиливают пролиферацию фибробластов и рост микрососудов дермы, что приводит к эпителизации и формированию гранулирующей ткани в более ранние сроки. Разработаны аппаратные технологии производства ПБТ. Например, Vivostat PRF®, Thermogenesis и др. Однако, эти технологии дороги и недоступны.

Цель. Разработать отечественную технологию приготовления гемокомпонентов на основе ПБТ и показать ее клиническую эффективность в лечении ожоговых ран IIIБ ст.

Материалы и методы. Из цельной крови здоровых доноров получали ПБТ. Больным ($n=6$) в возрасте от 45 до 60 лет с ожоговыми ранами IIIБ ст. 10+0,5% поверхности тела (п.т.) нанесли ПБТ интраоперационно, сразу после выполнения некрэктомии и создания стабильного гемостаза. Повязки с ПБТ наносили на раны одной конечности или половину тела. Эффективность применения повязок с ПБТ оценивали по срокам подготовки ожоговых ран к аутодермопластике (АДП). Ожоговые раны этого же больного на симметричных конечностях или половине тела, которые лечили традиционным способом являлись объектом сравнения (контроль).

Результаты. Во время первой перевязки ран и в дальнейшем повязка из ПБТ свободно отделялась от раневой поверхности, не травмируя грануляции. Через 5 дней наблюдали



выраженную краевую эпителизацию и активное созревание грануляций в ранах, а также отсутствие вторичных некрозов по сравнению с контролем. У 4 больных уже на 7 сутки быстрое формирование грануляций позволило выполнить АДП. У оставшихся 2 больных АДП провели через 10 суток. Восстановление кожного покрова в области применения ПБТ наступило на 5-7 сутки, на контрольных ранах к 10 суткам.

Выводы. Применение ПБТ для лечения больных с глубокими ожогами позволило сократить время подготовки больных к АДП, ускорить приживление кожного трансплантата и сократить время пребывания больных с глубокими ожогами в стационаре.

РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО КАСКАДА ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ В РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНИ, ОПОСРЕДОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛЬЮ

Высоких М.Ю., Вишнякова П.А., Володина М.А., Марей М.В.,
ТАРАСОВА Н.В.

Лаборатория митохондриальной медицины, ФГБУ НЦАГиП им.
В.И. Кулакова

Накопленные данные экспериментальных работ, выполненных при помощи методов молекулярной и клеточной биологии, спектроскопии и конфокальной микроскопии, позволяют утверждать, что контроль уровня активных форм кислорода (АФК) в клетке и межклеточном пространстве является ключевым узлом управления регенерацией ткани при ее повреждении и/или функциональной несостоятельности, опосредованной качественным или количественным изменением клеточного состава при патологии или старении. Одним из важнейших вопросов, который возникает из этого сценария, является выяснение механизма регуляции двух взаимоуравновешивающих процессов – чувствительности и устойчивости клеток к АФК митохондриального происхождения в контексте индукции или предотвращения клеточной гибели в поврежденной или несостоятельной ткани. Для индукции регенеративных процессов, гибель клеток может быть опосредована двумя различными по типу механизмами: активным (инструктивным) – через каспаз-зависимое высвобождение сигналов со стороны отмирающих клеток или пассивным (дерепрессивным) – при травматической гибели клеток, в гомеостатических условиях продуцирующих сигналы ингибирования пролиферации клеток-соседей с ненулевым потенциалом деления. Оба эти механизма в качестве центрального эффектора используют митохондриальный каскад передачи сигналов, опосредуемый контролем уровня АФК, однако занимают различные по продолжительности временные отрезки. В то время как первый механизм отвечает за индукцию клеточной гибели в рамках узкого временного окна, определяемого полным элиминированием апоптотических телец, второй механизм может быть задействован в более протяженные временные промежутки, длящиеся до тех пор, пока погибшие клетки, ингибировавшие регенеративный потенциал клеток-



соседей, не будут сами замещены новыми клетками-«ингибиторами». При этом второй тип индукции клеточной гибели и опосредованной ей регенерации ткани ассоциирован с эпителиально-мезенхимальным переходом, запускаемым транзитной гипоксией и активацией контроля качества митохондрий на фоне дисбаланса АФК.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01617

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРТИЛЬНОСТИ У ПАЦИЕНТОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ РОБОТ-АССИСТИРОВАННОЙ ЛАПАРОСКО- ПИЧЕСКОЙ МИОМЭКТОМИИ

Гудебская В.А., Кира Е.Ф., Политова А.К.

ИУВ ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им.
Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, г. Москва, Россия

Миома матки является наиболее распространенной доброкачественной опухолью и часто ассоциируется с бесплодием, невынашиванием беременности и патологическими родами. Не определена тактика ведения пациенток репродуктивного возраста с миомой матки. Медикаментозная терапия, дистанционные и малоинвазивные методики (ФУЗ-абляция и эмболизация маточных артерий) не заменили традиционную миомэктомию. Органосохраняющие реконструктивно-пластические операции часто являются одним из этапов репродуктивных технологий и позволяют восстановить детородную функцию. Однако травматичность и длительный реабилитационный период после лапаротомных миомэктомий, спаечный процесс в малом тазу в отдаленном послеоперационном периоде, сложность формирования полноценного рубца в ходе лапароскопических миомэктомий, заставляют искать новые техники оперативного лечения фиброида.

Цель исследования: анализ репродуктивных исходов у пациенток после лапароскопических робот-ассистированных миомэктомий. С использованием комплекса «da Vinci Si» 44-м пациенткам с миомой матки в возрасте от 25 до 45 лет (в среднем $35 \pm 3,1$ лет) в плановом порядке были выполнены миомэктомии. Из 44 оперированных больных 35 планировали беременность в ближайший год. У 11 (64,7%) из них наступила беременность: у 9 женщин – спонтанное наступление беременности в естественном цикле; у двух – в результате ЭКО, в одном случае показанием для ВРТ был мужской фактор. В 5 наблюдениях (29,4%) беременность завершилась рождением здоровых доношенных детей. Физиологическим течение беременности было у 4 женщин. У одной пациентки беременность, наступившая в результате 2-й попытки ЭКО, протекала на фоне угрозы прерывания на разных сроках, а во второй половине – на фоне фето-плацентарной недостаточности и гестоза легкой степени тяжести. В одном случае произошли нормальные своевременные самопроизвольные роды, послеродовой период протекали без осложнений. Четыре женщины в плановом порядке были родоразрешены путем операции кесарева сечения, у всех интраоперационно – миометрий в области рубца не истончен. Операции



и послеоперационный период протекали без осложнений. В настоящее время две пациентки беременные (22 и 24 недели), беременности протекают благоприятно. В 3 случаях беременность сохранить не удалось. У одной пациентки были две замершие беременности в сроке 8–9 недель, обусловленные генетическими причинами. У второй больной с антифосфолипидным синдромом – 2 самопроизвольных выкидыша в сроки 6–7 и 8–9 недель беременности на фоне активации внутрисосудистого свертывания крови. У третьей женщины 42 лет произошли два самопроизвольных выкидыша на 7–8 и 8–9 неделях беременности, причина не установлена. В одном наблюдении наступила внематочная беременность. Выполнена тубэктомия. Больная планирует ЭКО.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют об эффективности лапароскопических робот-ассистированных миомэктомий в восстановлении фертильности у женщин репродуктивного возраста с миомой матки.

ЭФФЕКТЫ ПАРАКРИННЫХ ФАКТОРОВ МЕЗИНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ НА ПАТОГЕНЕЗ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКИ/РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОРАЖЕНИЯ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

ГОРДЕЕВА А.Е., ТЕМНОВ А.А., НОВОСЕЛОВ В.И.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Россия

ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДМЗ», Россия

На сегодняшний день применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) является одним из возможных методов лечения ишемически/реперфузионных поражений (И/РП) органов. Одна из гипотез положительного эффекта МСК – выделение ими паракринных факторов, к которым, в первую очередь, относятся цитокины.

Цель работы – исследовать эффект паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток (PF-МСК) и мощного фермента-антиоксиданта человеческого рекомбинантного пероксиредоксина 6 (Prx6) на патогенез развития ишемически/реперфузионного поражения тонкого кишечника.

Моделирование И/РП тонкого кишечника включало лигирование верхней мезентеральной артерии у крыс с последующим деклампированием. Препараты PF-МСК, Prx6 и смесь PF-МСК- Prx6 вводились в кровь внутривенно.

Гистологический анализ показал, что И/РП тонкого кишечника приводит к патологическим изменениям в слизистых структурах органа. Введение в кровь белка Prx6 повышает устойчивость клеток к реперфузионным повреждениям, существенно предотвращая их гибель, что отмечено уже через 2 часа после окончания ишемии. Напротив, введение в кровь только PF-МСК не оказывает подобного защитного эффекта на этих сроках. Значительный протекторный эффект наблюдается при комплексном применении PF-МСК- Prx6. Кроме того, было показано, что на третьи сутки отмечается положительная динамика регенерации слизистой кишечника при комплексном использовании PF-МСК- Prx6.



Использование паракринных факторов мезенхималы стволых клеток в сочетании с белком-антиоксидантом человеческим рекомбинантным пероксиредоксином б при ише-мически/реперфузионном поражении тонкого кишечника показывает значительный про-текторный, противовоспалительный, антиапоптотический и регенерационный эффекты.

СТИМУЛЯЦИЯ КОЛОНИЕОБРАЗОВАНИЯ ГЕМОПО-ЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ГОМОГЕНАТОМ ТРУТНЕВОЙ ЛИЧИНКИ В ЗАВИСИ-МОСТИ ОТ СПОСОБА ЕГО ЭКСТРАЦИИ

ГОРЯЧЕВА К.В.^{1,2}, КЕЙНО В.В.¹, СМЕРНОВ И.В.¹, БОНДАРЕВ А.А.¹,
ШУНК А.А.¹

1 – ФГБОУ ВПО « Алтайский государственный университет», НИИ Биологической медицины, Барнаул, Россия

2 – ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский универ-ситет», кафедра неврологии, нейрохирургии с курсом ФПК и ППС, Барнаул, Россия

Актуальность. Гомогенат трутнёвой личинки (ГТЛ) получают путём измельчения личинок трутней. Таким образом, в составе ГТЛ содержится широкий набор питательных элементов: факторов роста, гормонов, витаминов, микроэлементов, аминокислот. Фак-торы роста и дифференцировки, содержащиеся в трутневом гомогенате, механизмы дей-ствия которых не исследовались детально, могут послужить инструментом для изучения возможностей стимуляции процессов регенерации тканей, органов и разработки лекар-ственных препаратов.

Цель. Сравнить влияние экстрактов ГТЛ на способность гемопоэтических клеток-предшественников к колониеобразованию. Материалы и методы. В ходе работы срав-нивали ацетоновое извлечение из ГТЛ и нативный ГТЛ. Количество клеток доводилось до 2×10^5 на 1 мл стандартной среды. Далее взвеси клеток помещали в 96-луночные пластиковые планшеты, при добавление стимулятора в объеме 5% от лунки. Планшеты культивировали в течение 7 суток в CO₂-инкубаторе при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажно-сти воздуха. После инкубирования подсчитывали число выросших колоний и кластеров. Результаты. За 100% было принято количество колоний в инатктном ряду. Гексановое извлечение проявило самую высокую стимулирующую активность – в 2,5 раза ($P < 0,01$) больше фонового значения. Вещества основного и кислотного характера показали стиму-ляцию в 1,3 и 1,9 раза ($P < 0,01$) соответственно, считая от фоновых показателей. Дополни-тельное добавление нативного ГТЛ в среду показал рост колоний в 5 ($P < 0,01$) раз по сравнению с фоно-выми показателями.

Вывод. Полученные извлечения показали различную величину по сравнению с нативным ГТЛ на способность гемопоэтических клеток-предшественников к колоние-образованию, но их стимуляция превышает на 1,5 и более фоновое значение, кроме экс-тракта основного характера и считается достаточной эффективной.



ПРОФИЛИРОВАНИЕ МКРНК (МИРНОМ) В ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ОЧАГАХ И ПЛАЗМЕ КРОВИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ ГЛУБОКОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

ГУСАР В.А., ТИМОФЕЕВА А.В., САННИКОВА М.В., ХАБАС Г.Н.,
ФРАНКЕВИЧ В.Е., БОБРОВ М.Ю.

ФГБУ НЦАГиП им. В.И. Кулакова, Москва, Россия, ул. Опарина, 4

Актуальность. Эндометриоз является наиболее изученным в клиническом, морфологическом и генетическом аспектах заболеванием, однако, вклад эпигенетических факторов в его патогенез остается до конца невыясненным. С открытием микроРНК (мкРНК) в качестве эпигенетических регуляторов экспрессии генов, вовлеченных в физиологический циклический процесс, происходящий в эндометрии, появилась возможность исследовать их роль в поддержании гомеостаза и дисфункции эндометрия. Цель. Оценить профиль тканевых и циркулирующих в крови мкРНК (МИРНОМ) для поиска потенциальных предиктивных и диагностических маркеров при эндометриозе. Материалы и методы. Образцы эутопического эндометрия, очаги с влагалища и толстого кишечника, взятые лапараскопическим доступом в пролиферативную фазу менструального цикла, плазма периферической крови больной эндометриозом и практически здоровой женщины проанализированы методом глубокого секвенирования (HiSeq 2000, Illumina). Результаты. При сопоставлении результатов исследования образцов эндометриоидных очагов относительно эутопического эндометрия, и плазмы крови больной эндометриозом относительно здоровой женщины выявлены, как уникальные, так и общие мкРНК для эндометриоидных очагов и плазмы крови с одинаковой направленностью изменений экспрессии: miR-10b-5p -27b-3p -28-3p -143-3p (с повышенной экспрессией), 106b-5p -144-3p -484, -652-3p (с пониженной экспрессией). Проведенный с помощью Cytoscape v.3.2.1 поиск генов-мишеней вышеуказанных мкРНК, показал их вовлеченность в процессы клеточной адгезии, иммунных реакций, ангиогенеза. Кроме этого, в очагах и плазме крови обнаружено семейство дифференциально экспрессирующихся miR-200, – 181, -182, -183, которые регулируют гены, участвующие в клеточной дифференцировке, миграции, инвазии и рецептивности эндометрия. Выводы. Профилирование мкРНК (МИРНОМ) может лечь в основу разработки неинвазивного теста для ранней диагностики эндометриоза.



ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРА РОСТА СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ В МИОКАРДЕ ПОСЛЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЗОН ЛОКАЛИЗАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА

ГОЛОВНЕВА Е.С., РЕЙДМАН В.Р.

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России», Челябинск, Россия

Ранее нами было показано усиление репаративных процессов в миокарде с диффузным и локальным повреждением после чрезкожного инфракрасного и красного лазерного воздействия на костный мозг, вызывающего выход в кровоток CD34+ клеток. Через 10 суток после облучения отмечалось уменьшение площади ишемических изменений миокарда, повышение плотности сосудов и нормализация параметров микроциркуляции, но локальные регуляторы неоангиогенеза не были изучены.

Целью исследования являлось изучение влияния среднеинтенсивного лазерного облучения зон локализации красного костного мозга на экспрессию фактора роста сосудистого эндотелия (ФРСЭ) в поврежденном миокарде.

Материалы и методы. Исследование проведено на 90 крысах с моделью диффузного и локального повреждения миокарда. Использовали лазеры 980 нм и 670 нм. Сеансы лазерного воздействия проводились в течение 10 суток на зоны локализации красного костного мозга, мощность 1 Вт. В группе динамического контроля воспроизводились все манипуляции с животными, за исключением облучения. ФРСЭ выявляли в гистологических парафиновых срезах иммуногистохимическим методом.

Результаты. Отмечалось значительное усиление экспрессии ФРСЭ в поврежденном миокарде после 10 суток лазерного воздействия на костный мозг. Максимальные показатели экспрессии ФРСЭ достигались в группе животных с диффузным повреждением миокарда. Достоверных отличий групп, получавших облучение с разной длиной волны не выявлено.

По литературным данным известно, что для индукции сосудистого роста необходима адекватная концентрация факторов роста, их рецепторов, и активация ряда протеолитических ферментов. ФРСЭ является главным регулятором процессов взаимодействия ферментов и других факторов роста в процессе неоангиогенеза.

Выводы. Повышение экспрессии ФРСЭ в поврежденном миокарде после лазерной стимуляции выхода из костного мозга CD34+ клеток, может являться свидетельством паракринной активации ими локальных процессов неоангиогенеза.



УСКОРЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ЗАЖИВЛЕНИЯ КОЖНЫХ ХИРУРГИЧЕСКИХ РАН ПОСЛЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЗОН ЛОКАЛИЗАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА

ГОЛОВНЕВА Е.С.¹, РЕВЕЛЬ-МУРОЗ Ж.А.², ОНИЩЕНКО Н.А.¹,
ОМЕЛЬЯНЕНКО А.Г.¹

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России», Челябинск, Россия 1

ГБУЗ ЦОСМП «Челябинский государственный институт лазерной хирургии», Челябинск, Россия 2

Ускорение заживления кожных ран представляет собой важную задачу при удалении новообразований кожи, лечении ожогов и проведении пластических операций. Ранее проведенные исследования показали усиление репаративных процессов в миокарде и ишемизированных мышцах после чрезкожного инфракрасного и красного лазерного воздействия на костный мозг, вызывающего выход в кровоток CD34+ клеток. Но влияние этого воздействия на заживление дефектов кожи до сих пор не изучалось.

Целью исследования являлось изучение влияния среднеинтенсивного лазерного облучения зон локализации красного костного мозга на скорость заживления кожной хирургической раны.

Материалы и методы. Исследование проведено на 20 крысах с хирургической раной кожи (3 см), ушитой узловыми швами. Использовали лазер 980 нм, проводили 5 сеансов лазерного воздействия мощностью 0,5 Вт на зоны локализации красного костного мозга. В группе динамического контроля воспроизводились все манипуляции с животными, за исключением облучения. Биопсийный материал забирался на 1, 3, 5, 10 сутки опыта; гистологические препараты, окрашенные гематоксилин-эозином, по Ван-Гизон, и толuidиновым синим, анализировались морфометрическими методами.

Результаты. В препаратах, полученных от животных с лазерным воздействием на костный мозг, на 3 сутки эксперимента мы отметили значительное уменьшение нейтрофильной инфильтрации. На 5 сутки на фоне активации тучных клеток наблюдался выраженный неоагиогенез и большая площадь, занимаемая тяжами фибробластов. К 10 суткам возрастала плотность волокон соединительной ткани и уменьшалась ширина зоны рубца по сравнению с контрольной группой, что свидетельствовало о начале процессов его созревания.

Выводы. Лазерное воздействие на зоны локализации красного костного мозга ускоряет заживление кожной хирургической раны в эксперименте.



ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕЛИЗАТА ТРОМБОЦИТОВ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА БИОКОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛАХ

ДАНИЛКОВИЧ Н.Н.¹, КОСМАЧЕВА С.М.¹, ДЕРКАЧЕВ В.С.²,
ИГНАТЕНКО С.И.¹, ПОТАПНЕВ М.П.²

1 – РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск,
Республика Беларусь

2 – Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Республика Беларусь

Применение клеточных технологий и реагентов из тромбоцитов в составе ткане-инженерных конструкций для восстановления костных дефектов является перспективным решением в стимуляции репаративного остеогенеза.

Цель – оценить влияние релизата тромбоцитов при культивировании мезенхимальных стволовых клеток с различными биокомпозитными материалами *in vitro*.

В экспериментах использовали следующие биокомпозитные материалы: Кафам (А, В, С, D) и β -трикальций фосфат (β -СаЗ(РO)2) (ИБОХ НАН РБ); Коллапан-Л («Интермедатит», РФ). Оценку метаболической и пролиферативной активности МСК, заселенных на биоматериалы с добавлением в среду культивирования 1-5% релизата тромбоцита (РТ), учитывали в МТТ тесте.

В экспериментах показано, что существует закономерная тенденция к нейтрализации токсичности скаффолдов и их супернатантов при добавлении в среду культивирования 1–5% РТ. Так, наиболее значимое снижение токсичности супернатантов биоматериалов наблюдалось у «Кафама А» (58–26%), СаЗ(РO4)2 (62–39%) и Коллапана (69–52%). Выживаемость МСК на биоматериалах «Кафам D», «Кафам В» и «Кафам А» также увеличивалась при культивировании с РТ. Изначально, токсичность этих биоматериалов составляла 41%, 53% и 59% соответственно, являлась высокой. Однако, при добавлении 5% РТ наблюдается значительное снижение токсичности материалов, которая составила 13% (**p=0,049), 32% (**p=0,02) и 39% («Кафам D, В, А» соответственно). Выживаемость в среднем увеличивается на 20–28% по отношению к контролю.

Исследованные биокомпозитные материалы обладают разной степенью токсичности в отношении МСК *in vitro*. Установлено снижение токсических свойств исследуемых материалов при добавлении в среду 1–5% релизата тромбоцитов в течение 24 часов, что создает благоприятные условия для пролиферации клеток.



КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА IN VITRO НА ОСНОВЕ НЕЙРАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДОНОРОВ С СИНДРОМОМ ДАУНА

ДАШИНИМАЕВ Э.Б., АРТЮХОВ А.С., ВАСИЛЬЕВ А.В.

ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва

Болезнь Альцгеймера (БА) является одной из самых крупных нерешенных медицинских проблем 21-го века. Данное нейродегенеративное заболевание поражает в основном лиц пожилого возраста старше 65 лет, однако существуют наследственные формы заболевания, поражающие людей в более раннем возрасте. Самой крупной такой группой людей являются пациенты с синдромом Дауна (СД). К настоящему времени накоплено много данных, говорящих о патологическом метаболизме бета-амилоида у людей с СД, выражающимся в накоплении амилоидных бляшек в тканях головного мозга, начиная с подросткового возраста, а также в аномально высокой встречаемости случаев БА среди людей с СД после 40 лет (Mann et al., 1989; Lemere et al., 1996). В данной работе мы поставили перед собой цель изучить возможность создания клеточной модели, воспроизводящей патологические процессы БА на основе нейральных клеток доноров с СД. Для этого мы репрограммировали несколько культур клеток амниотической жидкости человека с СД до плюрипотентного состояния с получением линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), которые затем дифференцировали в нейральном направлении. С целью доказательства состоятельности нейральной дифференцировки, полученные культуры клеток мы протестировали несколькими методами, включая измерение специфической электрофизиологической активности нейронов методом патч-клампа. В результате мы показали, что нейральные клетки от доноров СД обладают патологическим метаболизмом бета-амилоида по сравнению со здоровым контролем, выражающимся в повышенной секреции и накоплении гранул патологической изоформы бета-амилоида bA-42 в культуре клеток in vitro. Культуры нейральных клеток от доноров с СД можно использовать в качестве основы для создания тест-систем скрининга лекарственных препаратов против БА, поскольку ИПСК обладают неограниченным пролиферативным потенциалом и позволяют масштабировать данную модель до размеров, необходимых для проведения объемных фармацевтических исследований.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АНГИОГЕНЕЗ – ИННОВАЦИОННОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКИМИ БОЛЕЗНЯМИ

ДЕЕВ Р.В., ПЛАКСА И.Л., БОЗО И.Я., ЛИВАНОВА А.А., ИСАЕВ А.А.

ПАО «Институт стволовых клеток человека» Москва, Россия

За пятилетний период терапевтический ангиогенез стал одним из эффективных инструментов коррекции хирургических заболеваний, в частности в области сосудистой



хирургии; выполнен научно-технологический задел для применения данной технологии в костной хирургии, лечении повреждений периферических нервов, кардиологии.

По данным пострегистрационной наблюдательной программы по оценке эффективности препарата Неоваскулген с участием 262 пациентов со II–III стадией хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК) по А.В. Покровскому-Фонтейну (вовлечено 35 лечебно-профилактических учреждений), применение ангиогенной индукции rCMV-VEGF165 сопровождалось достоверным увеличением дистанции безболевого ходьбы (ДБХ) на 156% с наиболее выраженным терапевтическим эффектом у пациентов с III стадией (международный идентификатор исследования NCT02369809). Отсроченное наблюдение за его участниками показало, что эффект терапии сохраняется на протяжении 3 лет с максимальным приростом ДБХ к концу первого года. Применение препарата Неоваскулген у пациентов с ХИНК на фоне СД также сопровождалось достоверным улучшением функционального состояния, что выражалось увеличением ДБХ в течение 6 месяцев на 133%. Предварительные результаты пилотного исследования по оценке применения терапевтического ангиогенеза у пациентов с синдромом диабетической стопы позволяют сделать вывод, что данный метод безопасен у данной категории пациентов и может стать дополнительным средством коррекции перфузии тканей конечности с целью оптимизации процессов репаративной регенерации язвенных дефектов (NCT02538705).

Проведённое доклиническое исследование на модели травмы седалищного нерва (полное пересечение) показало, что генная индукция обеспечивает статистически значимое сокращение сроков восстановления его функции, что выражается в увеличении амплитуды мышечного ответа, скорости проведения, а также восстановлением седалищного индекса. Полученные результаты позволили запланировать клиническое исследование (NCT02352649).

Применение подходов терапевтического ангиогенеза в челюстно-лицевой хирургии в ближайшей перспективе может позволить значительно расширить возможности реконструктивного лечения в т.ч. трехстеночных дефектов костей. Положительные результаты эксперимента явились предпосылкой для инициации клинического исследования (NCT02293031).

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОХРАНЕНИЯ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПРИ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЯИЧНИКОВ

ДЕНИСЕНКО М.В.^{1,2}, АБАКУШИНА Е.В.², РУМЯНЦЕВ С.А.²,
САВЕЛЬЕВА Г.М.¹, КУРЦЕР М.А.¹, АЗИЕВ О.А.¹, АНДРЕЕВ А.И.¹,
КОСТЮК Э.В.¹

1 – ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

2 – ФНКЦ ДГОИ им. Д. Рогачева, Москва, Россия

Проблема сохранения фертильности пациенток с преждевременной недостаточностью яичников (ПНЯ) вследствие лечения онкологических заболеваний, оперативных



вмешательств на яичниках, аутоиммунных заболеваний или генетической предрасположенности весьма актуальна из-за возрастающего количества таких пациенток.

В исследование были включены пациентки в возрасте от 18 до 40 лет со сниженным овариальным резервом различного генеза. Фрагменты овариальной ткани, полученные в ходе оперативного вмешательства, измельчались и выращивались на протяжении 34 дней в полной питательной среде с ростовыми факторами и гормонами. Проводили микроскопический анализ морфологии ткани яичников и оценку жизнеспособности клеток и наличия апоптоза.

Морфологический анализ показал наличие атретических фолликулов в толще овариальной ткани, присутствие клеток гранулезы и фибробластов. Со временем фибробласты сформировали монослой в некоторых лунках, клетки гранулезы к 7 дню размножились, к 21 дню стали уходить в апоптоз (около 25% клеток), а к 34 дню процент мертвых клеток составил $56 \pm 4\%$. На 10–14 дни культивирования были обнаружены фолликулы с антральной полостью или без нее.

Флуоресцентная микроскопия измельченных фрагментов показала хорошую выживаемость стромальных элементов ткани на протяжении всего периода культивирования. При добавлении фолликулостимулирующего гормона сохранялись мелкие сосудистые образования.

В процессе экспериментальной работы – культивирования овариальной ткани *in vitro* – примордиальные фолликулы развивались и сохраняли свою жизнеспособность. Были получены фолликулы ранних стадий развития (преантральные и ранние антральные). Показано, что жизнеспособность большинства клеток овариальной ткани в данных условиях сохраняется.

СОЗДАНИЕ КЛЕТочНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СИНДРОМА УДЛИНЕННОГО ИНТЕРВАЛА QT

ДЕМЕНТЬЕВА Е.В.^{1,2,3}, ВЯЛКОВА А.В.^{1,2,3}, ГРИГОРЬЕВА Е.В.^{1,2,3},
МЕДВЕДЕВ С.П.^{1,2,3,4}, ШЕВЧЕНКО А.И.^{1,2,3}, ЕЛИСАФЕНКО Е.А.^{1,2,3},
БАЙРАМОВА С.А.², ПОКУШАЛОВ Е.А.², КАРАСЬКОВ А.М.²,
ЗАКИЯН С.М.^{1,2,3,4}

1 – ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

2 – ФГБУ НИИПКи им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздрава РФ, Новосибирск, Россия

3 – ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

4 – Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Синдром удлиненного интервала QT (LQTS) – аритмическое заболевание, связанное с повышенным риском желудочковой тахикардии, синкопе и внезапной смерти. Одной из причин LQTS являются мутации в генах, ответственных за структуру и функциониро-



вание ионных каналов кардиомиоцитов. Мутации могут иметь различный механизм действия, что делает необходимым создание целого набора моделей LQTS. Наиболее перспективным подходом к моделированию LQTS считается получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) от пациентов с врожденным LQTS и их последующая дифференцировка в кардиомиоциты. Показано, что такие пациент-специфичные кардиомиоциты способны адекватно воспроизводить LQTS *in vitro*.

Генетический анализ 14 пациентов с диагнозом LQTS выявил 6 пациентов с мутациями, вызывающими данный синдром. Еще у 4 пациентов были обнаружены SNPs, которые могут влиять на продолжительность интервала QT и увеличивать вероятность возникновения аритмических событий. Фибробласты пациентов с мутациями V254M в гене KCNQ1 и T613M в гене KCNH2 были репрограммированы к плюрипотентному состоянию. Установлено, что полученные в результате репрограммирования ИПСК способны дифференцироваться в функциональные кардиомиоциты. Таким образом, получены пациент-специфичные линии ИПСК и кардиомиоциты с мутациями V254M в гене KCNQ1 и T613M в гене KCNH2, которые в дальнейшем можно использовать для моделирования *in vitro* врожденного LQTS 1-го и 2-го типов.

АНАЛИЗ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭФФЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРОЙ РЕАКЦИИ ТРАНС- ПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА

ДРИЗЕ Н.И., ШИПУНОВА И.Н., ПЕТИНАТИ Н.А., БИГИЛЬДЕЕВ А.Е.,
ЗЕЗИНА Е.А., КУЗЬМИНА Л.А., ПАРОВИЧНИКОВА Е.Н.,
САВЧЕНКО В.Г.

ФГБУ Гематологический научный центр МЗ России, Москва, Россия

Актуальность Аллогенная трансплантация костного мозга (алло-ТКМ) в настоящее время является единственным методом излечения многих заболеваний крови. Однако ее применение ограничено тяжелыми осложнениями, основным среди которых является реакция трансплантат против хозяина (РТПХ). В связи с недостаточной эффективностью существующих методов профилактики РТПХ, активно исследуются новые, в том числе применение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) донора.

Цель. В работе анализировали результаты профилактики острой РТПХ (оРТПХ) с помощью МСК у больных гемобластозами после алло-ТКМ.

Материалы и методы. В исследование было включено 77 пациентов. Они были рандомизированы на 2 группы: получавших стандартную профилактику оРТПХ и тех, кому дополнительно вводили МСК донора костного мозга.

Результаты. Показано, что введение МСК снижает частоту развития оРТПХ в 2 раза и увеличивает выживаемость пациентов.



Некоторые образцы МСК оказались неэффективными для профилактики ОРТПХ. Анализ отдельных характеристик доноров (пол, возраст, индекс массы тела), свойств МСК этих доноров (параметры роста, уровень экспрессии 30 генов, участвующих в пролиферации, дифференцировке, иммуномодуляции) не выявил значимых отличий между МСК, эффективными и неэффективными для профилактики ОРТПХ. Метод множественной логистической регрессии позволил установить сочетание признаков, характеризующих образцы ММСК, наиболее подходящие для профилактики ОРТПХ.

Выводы. Была построена модель, которая позволяет заранее оценить успешность применения анализируемых образцов МСК. Значимыми для модели признаками оказались повышенный относительный уровень экспрессии гена FGFR1 в сочетании со сниженными уровнями экспрессии генов PPARG и IGF1. Предложенная модель проспективной оценки эффективности использования МСК даст возможность предотвратить развитие ОРТПХ у максимального количества пациентов.

РЕАКЦИЯ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ НА ИМПЛАНТАЦИЮ МОДИФИЦИРОВАННОГО ФТОРОПЛАСТА В ЭКСПЕРИМЕНТ

Дудинская А.В. Юнаш С.С.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Актуальность. Использование для пластических целей синтетических полимерных материалов находит все более широкое применение в хирургической практике. Важнейшими критериями материала являются его биологическая инертность и химическая стойкость.

Цель – оценить реакцию брюшины на имплантацию модифицированного лекарственными веществами фторопласта-4.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на белых лабораторных крысах (10 особей), массой 250–300 г. Под кетаминovým наркозом после подготовки операционного поля производилась срединная лапаротомия, имплантация фторопласта-4 в боковые каналы брюшной полости. Животные были разделены на 2 группы: 1 группа (контрольная), 2 группа (опытная). В контрольной группе имплантировался стерильный химически чистый волокнисто-пористый фторопласт-4, опытная группа – в брюшную полость помещался фрагмент фторопласта-4, пропитанного раствором кальция хлорида 10% и фотосенсибилизатором фторопластом. Размер материала составлял 0,5*0,5*0,2 см. На 30 сутки после операции животные выводились из эксперимента. Производился забор материала для гистологического исследования.

Результаты. На 30 сутки в 1 (контрольной) группе у всех животных вокруг полимерного материала определялось разрастание сальника с формированием соединительнотканной капсулы, в меньшей степени он врастал внутрь материала. Здесь же в незначительном количестве находились гигантские многоядерные клетки.

Во 2 группе (опытной) наблюдалась схожая морфологическая картина, однако происходила не только инкапсуляция полимера, но и прорастание внутрь фторопласта широ-



ких прослоек хаотически расположенных волокон соединительной ткани.

Выводы. Пропитывание лекарственными веществами фторопласта может способствовать более интенсивному прорастанию соединительной тканью.

РЕАКЦИЯ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ НА ИМПЛАНТАЦИЮ МОДИФИЦИРОВАННОГО ФТОРОПЛАСТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Дудинская А.В., Юнаш С.С.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра топографической анатомии и оперативной хирургии
Научный руководитель – ассистент Кудло В.В.

Актуальность. Использование для пластических целей синтетических полимерных материалов находит все более широкое применение в хирургической практике. Важнейшими критериями при подборе материала являются его биологическая инертность и химическая стойкость. Эти факторы обуславливают различные реакции организма и непосредственным образом влияют на результат хирургического вмешательства[1].

Цель – оценить реакцию брюшины на имплантацию модифицированного лекарственными веществами фторопласта-4.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на белых лабораторных крысах (10 особей), массой 250–300г. Под кетаминovým наркозом после подготовки операционного поля производилась срединная лапаротомия, имплантация фторопласта-4 в боковые каналы брюшной полости. Животные были разделены на 2 группы: 1 группа (контрольная), 2 группа (опытная). В контрольной группе имплантировался стерильный химически чистый волокнисто-пористый фторопласт-4, опытная группа – в брюшную полость помещался фрагмент фторопласта-4, пропитанного раствором кальция хлорида 10% и фотосенсибилизатором фторопластом. Размер материала составлял 0,5*0,5*0,2 см. На 30 сутки после операции животные выводились из эксперимента. Производился забор материала для гистологического исследования.

Результаты. На 30 сутки в 1 (контрольной) группе у всех животных вокруг полимерного материала определялось разрастание сальника с формированием соединительнотканной капсулы, в меньшей степени он врастал внутрь материала. Здесь же в незначительном количестве находились гигантские многоядерные клетки.

Во 2 группе (опытной) наблюдалась схожая морфологическая картина, однако происходила не только инкапсуляция полимера, но и прорастание внутрь фторопласта широких прослоек хаотически расположенных волокон соединительной ткани.

Выводы.

1. Фторопласт-4, пропитанный лекарственными веществами, через 30 дней после имплантации вызывает схожую воспалительную реакцию, как при имплантации чистого полимера.

2. Процесс адаптации тканей, окружающих фторопласт-4, ограничивается слабо-выраженной пролиферацией клеточных элементов, образованием соединительнотканной капсулы.



3. Пропитывание лекарственными веществами фторопласта может способствовать более интенсивному прорастанию соединительной тканию.

Данные результаты подтверждают высокую химическую стойкость и биологическую инертность пропитанного лекарственными веществами фторопласта-4. Это позволяет говорить о возможности его использования в абдоминальной хирургии.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК АУТОГЕННОГО КОСТНОГО МОЗГА ПРИ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТИ

Досова А.К., Аскарлов М.Б.

Национальный научный медицинский центр, Астана, Казахстан

Актуальность. Нейросенсорная тугоухость (НСТ) – поражение звуковоспринимающего аппарата и/или центрального отдела слухового анализатора, обусловленная патологией органа Корти и корешков предверноулиткового нерва. Большинство больных НСТ с аутоиммунным механизмом повреждения внутреннего уха. Гемопоэтические клетки костного мозга (ГСК КМ) с иммунорегуляторными свойствами, могут стать патогенетически оправданным методом лечения НСТ.

Цель. Клинико–аудиометрическая оценка трансплантации ГСК КМ при НСТ.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 10 пациентов от 18–50 лет с сенсоневральной тугоухостью II-III ст. Биотехнологическим методом выделяли ГСК КМ; трансплантацию проводили системно до 135×10^6 клеток в 200 мл. 0,9% NaCl. Проводили клинико-аудиологическое обследование в динамике лечения. Аудиометрическое исследование выполняли на аппарате МА-51 (Германия).

Результаты. После однократной трансплантации ГСК КМ положительный регенеративный потенциал наблюдали у пациентов через 5–7 недель. Аудиометрия показала, что улучшение слуха наступало через 2 мес. после введения ГСК КМ, восприятие по костной и воздушной проводимости понизились в среднем на 15–20 дБ по всей шкале. Субъективно пациенты с НСТ после применения ГСК КМ отмечали улучшение слуха, уменьшение шума в ушах, улучшение разборчивости речи. В группе с традиционным лечением аудиометрия выявила снижение слуха – характерны нисходящий тип кривой и полное отсутствие костно-воздушного интервала, отсутствие восприятия тонов на 1500–2000 Гц при костном проведении звука.

Выводы. Отмечена эффективность ГСК КМ в комплексном лечении пациентов с НСТ. Полагаем, позитивная динамика улучшения слуха связана с регуляцией: местных аутоиммунных реакций в кортиевом органе, апоптоза волосковых клеток, улучшениями микроциркуляции, в результате которого запускаются процессы восстановления внутреннего уха и нарушенных коммуникации в нейронных сетях и соответственно, их функции.



ПРИМЕНЕНИЕ ФЕТАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТАХ БАРАБАНОЙ ПЕРЕПОНКИ

Досова А.К.

Национальный научный медицинский центр, Астана, Казахстан

Актуальность. Травматические перфорации барабанной перепонки (БП) актуальная проблема ЛОР – хирургии. Классические методы восстановления целостности БП сопряжены с хирургическими трудностями. Фетальные фибробласты (ФФ) с выраженными регенерационными свойствами, могут явиться эффективным методом лечения дефектов БП.

Цель. Оценить эффективность ФФ на регенерацию посттравматический дефект БП.

Материалы и методы. Клеточная терапия проведена у 10 пациентов с посттравматическими дефектами БП. ФФ получены в условиях лаборатории клеточных технологий по разрабатанной методике (инн. патент №19899 МОН РК) из дермы 18–20 нед. плодов человека путем культивирования в среде Iscov «Sigma» с FBS 10% «HyClone». В оперблоке, после анестезии кожи слухового прохода производили дезэпителизацию края дефекта БП, далее на влажную раневую поверхность БП укладывали трансплантат из ФФ на коллагеновом матриксе в объеме 2×10^6 клеток в 0,5 мл 0,9% NaCl. Оценку процессов регенерации БП и остроты слуха проводили отоскопическими и аудиометрическими исследованиями в динамике.

Результаты. Трансплантация ФФ активизировала процессы регенерации БП. Восстановление целостности БП нами отмечено через 1 месяц после клеточной терапии, а к 1,5 мес. полное её восстановление. БП представляла собой тонкую натянутую пленку с процессами неоваскуляризации. Также происходило и улучшение остроты слуха. Анализ аудиометрии выявил значительное улучшение параметров слуха через 6 недель и полное его восстановление – через 7 недель. Субъективно пациенты отмечали улучшение общего состояния организма, работоспособности.

Заключение. Применение ФФ при дефектах БП способствуют полному восстановлению тимпанальной мембраны и слуха.

P.S. Подробные результаты будут представлены в виде устного доклада.

УЧАСТИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

ДОМАРАЦКАЯ Е.И., ШЕВЕЛЕВА О.Н., РАМАЗАНОВА С.Г.

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

Регенерация поврежденных тканей предполагает существование клеток, участвующих в восстановительном процессе. Исследования последних лет показывают, что наряду СК-резидентами в восстановлении ткани могут участвовать предшественники КМ происхождения. МСК являются кандидатами на роль клеток с репаративным потенциа-



лом, поскольку обладают широкими дифференцировочными потенциями и могут дифференцироваться в остео-, хондро-, нейро- и миогенном направлениях. Они могут выходить в циркуляцию в ответ на сигналы о повреждении и проявлять свои терапевтические эффекты в месте повреждения или травмы. Трафик МСК в место повреждения и их участие в регенеративном процессе может быть естественным ответом организма, усиливающим участие эндогенного пула МСК за счет экзогенно введенных МСК. Таким образом, доставка МСК из аутологичных (собственных) тканей пациента может усиливать его собственные репаративные возможности. Накапливаются данные о том, что в основе целительных эффектов МСК могут лежать два механизма: *in situ* дифференцировка МСК после их рекрутирования в место повреждения и их паракринное влияние. Последняя концепция основывается на свойстве МСК секретировать большой набор факторов, обладающих помимо иммуномодуляторного действия, также способностью обеспечивать регенеративное микроокружение. Биоактивные факторы, цитокины, выделяемые МСК стимулируют ангиогенез, митотическую активность тканеспецифических клеток, подавляют образование рубца и апоптоз. Таким образом, МСК могут выступать как альтернатива существующей терапевтической стратегии, используемой при скелетномышечных травмах, и стимулировать собственные репаративные потенции организма. В докладе рассматриваются возможные механизмы миогенеза при повреждении скелетных мышц – участие сателлитных клеток, недифференцированных предшественников из других источников (костного мозга), слияние клеток костно-мозгового происхождения с миотубами, дифференцировка МСК в миогенном направлении, паракринная функция МСК. Приводятся некоторые данные собственных исследований.

КАЧЕСТВЕННАЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕССА ПРИ УДЛИНЕНИИ КОСТИ

Дьячкова Г.В., Дьячков К.А.

ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России

Актуальность. История хирургического удлинения кости составляет около 100 лет захватывающей борьбы, развития и непрерывного совершенствования, пока не были признаны преимущества метода Илизарова. Тем не менее, удлинение конечности, особенно в сочетании с устранением многоплоскостных деформаций, все еще остается сложной задачей.

Цель. Изучить рентгеноморфологические особенности репаративного процесса, разработать параметры и критерии для качественной и количественной оценки дистракционного регенерата у больных с укорочениями конечностей на различных этапах удлинения методом чрескостного остеосинтеза.

Материалы и методы. Мультирезонансная компьютерная томография (МСКТ) проведена 85 больным с врожденным и приобретенным укорочением конечности на (GE Light Speed VCT, Aquilion-64), магнитно-резонансная томография- 35 больным (MPT 1,5 Tl).



Результаты. Качество костного регенерата оценивали по величине площади и плотности всего регенерата, «зоны роста» регенерата, плотности костных отделов регенерата, % -отношению площади соединительнотканной прослойки к общей площади регенерата. В периоде distraction площадь «зоны роста» регенерата не должна превышать 30–32 % от его общей площади, а плотность соединительно – тканной прослойки при хорошем качестве регенерата не должна быть меньше $50,8 \pm 14,1 \text{ HU}$ через 60–70 дней удлинения. Плотность костных отделов регенерата через 50–60 дней distraction должна составлять не менее $247,2 \pm 64,5 \text{ HU}$. По данным магнитно – резонансной томографии достаточная для полноценной реабилитации степень перестройки новообразованной кости должна составлять не менее 70% от общей площади регенерата. Ремоделирование кости после удлинения происходит путем трабекулярной адаптации костной ткани в результате заполнения межтрабекулярного пространства костью с формированием корковой пластинки трехзонального строения и формированием костно-мозгового канала.

Вывод. Современные методы лучевой диагностики позволяют получить полноценную качественную и количественную характеристику репаративного процесса при удлинении конечности методом distractionного остеосинтеза по Илизарову.

ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ НА ОСНОВЕ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУ- ЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ.

ЕРЕМИН И.И.¹, ПУЛИН А.А.¹, ЗОРИН В.Л.^{2,3}, ЛАЗАРЕВА Н.Л.¹,
ГИЛЬМУТДИНОВА И.Р.¹, ГОМЗЯКОВ А.Е.¹, САМЧУК Д.П.¹,
ПЕТРИКИНА А.П.¹, ГРИНАКОВСКАЯ О.С.¹, ЕРЕМИН П.С.¹,
ЧАУЗОВА Т.С.³, МУРЗАБЕКОВ М.Б.³, ЗОРИНА А.И.²,
ИВАННИКОВ С.В.⁴, ВИНАРОВ А.^{3,4}, БУТНАРУ Д.В.⁴,
ТИМАШКОВ Д.А.¹, ВИТЬКО Н.К.¹, КОТЕНКО К.В.⁵

1 – ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой», Москва, Россия. Москва

2 – ПАО «ИСКЧ», Москва, Россия.

3 – ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия.

4 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия.

5 – Главное медицинское управление Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

В настоящее время в регенеративной медицине все большую популярность приобретают минимально манипулированные клеточные продукты. К таким продуктам относится стромально-васкулярная фракция (СВФ) жировой ткани. Жировая ткань состоит из адипоцитов, их предшественников, эндотелиальных клеток, перicyтов, фибробластов и межклеточного матрикса. Адипоциты занимают более чем 90% объема ткани, благодаря своим крупным размерам, однако их количество составляет менее 50%. Наряду со зрелыми терминально дифференцированными адипоцитами, в строме присутствуют мезенхимальные клетки, находящиеся, в периваскулярной зоне.



СВФ представляет собой весь пул ядросодержащих клеток, который может быть выделен из жировой ткани путем ферментативной обработки. Процессинг жировой ткани может быть осуществлен вручную в стерильных условиях культуральной лаборатории или с использованием автоматизированных закрытых систем. На российском рынке существует единственная система, разрешенная для медицинского применения – Cytori Celution 800 CRS. Во всем мире сегодня проводится более 100 клинических исследований по оценке эффективности и безопасности применения СВФ для лечения различных патологических состояний.

На территории РФ также активно проводятся доклинические и клинические исследования в этой области. Коллективом сотрудников Центра биомедицинских технологий ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» Управления делами Президента РФ разработаны 6 протоколов инициативных клинических исследований с использованием СВФ для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата, урогенитальных патологий, оптической нейродегенерации. Все протоколы разработаны в соответствии с требованиями «Надлежащей клинической практики» (GCP), получили одобрение Междисциплинарного этического комитета и зарегистрированы в международной базе данных ClinicalTrials.gov. Получены первичные данные по безопасности, два исследования находятся на завершающей стадии.

Применение клеточных продуктов на основе СВФ позволяет использовать малоинвазивные хирургические технологии, осуществлять вмешательства в рамках дневного стационара, значительно сократить период реабилитации пациентов и достичь терапевтической эффективности в кратчайшие сроки, в некоторых случаях даже у некурабельных больных.

ПОИСКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОСТНЫХ ГРАФТОВ ИЗ ММСК И СВФ-ЖТ: ОТ ЭКСПЕРИ- МЕНТА К КЛИНИКЕ

ЕРЕМИН И.И.¹, БОЗО И.Я.^{2,3,4}, ВОЛОЖИН Г.А.³, ЗОРИН В.Л.²,
ДЕЕВ Р.В.^{2,5}, РОЖКОВ С.И.³, ЕРЕМИН П.С.⁴, ТОРОПОВ Е.Н.⁴,
СИДЛЕЦКИЙ В.Я.⁴, ПУЛИН А.А.¹, ДРОБЫШЕВ А.Ю.³,
КОМЛЕВ В.С.⁶

1 – ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой»
Управления делами Президента РФ, Москва, Россия

2 – ПАО «Институт Стволовых Клеток Человека», Москва

3 – ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», Москва, Россия

4 – ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, Россия

5 – ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия



6 – ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова» Российской академии наук, Москва, Россия

Актуальность. Недостатки ординарных остеопластических материалов служат основой разработки потенциально более эффективных – тканеинженерных костных графтов (ТКГ).

Цель. Оценить биологическое действие разработанных ТКГ *in vivo* и их эффективность в лечении пациентов с костными дефектами и атрофией челюстей.

Материал и методы. Для создания ТКГ использовали фосфаты кальция (ТКФ, ОКФ) и один из двух видов клеток: аутогенные мезенхимные мультипотентные стромальные клетки (ММСК) слизистой десны и стромально-вазкулярную фракцию клеток жировой ткани (СВФ-ЖТ). Материалы оценивали в ортотопических условиях *in vivo* (дефекты темных костей кроликов, диаметр 10 мм), затем – в пилотном клиническом исследовании (13 пациентов) с использованием КТ и гистологических методов.

Результаты. Наиболее оптимальные результаты были получены в случае трех вариантов ТКГ: ТКФ+ММСК, ОКФ+ММСК, ТКФ+СВФ-ЖТ.

Вывод. Требуется выполнение клинических исследований каждого варианта ТКГ с фокусом на конкретное медицинское показание. Мы начали первое из таких КИ: NCT02209311.

РОЛЬ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ СУБТОТАЛЬНОЙ РЕЗЕКЦИИ

Ельчанинов А.В.¹, Фатхудинов Т.Х.¹, Кананыхина Е.Ю.^{1,2}, Усман Н.Ю.¹, Арутюнян И.В.¹, Макаров А.В.¹, Глинкина В.В.³, Большакова Г.Б.², Сухих Г.Т.¹

1 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России» (директор – академик РАН, Г.Т. Сухих)

2 – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (директор – профессор О.В. Макарова)

3 – ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (ректор – академик РАН, С.А. Лукьянов)

Актуальность. Роль прогениторных клеток в регенерации печени после субтотальной резекции (удаление 80% массы органа) не изучена. При этом известно, что после субтотальной резекции печени крыс пролиферация гепатоцитов оказывается временно заблокированной, что делает возможным участие резидентных недифференцированных клеток в регенерации печени.

Цель. Изучить роль резидентных прогениторных клеток в регенерации печени после субтотальной резекции.

Материалы и методы. У самцов крыс Вистар (n=50) удаляли до 80% массы печени. Резидентные прогениторные клетки в регенерирующей печени выявляли с помощью антител к SOX9 и цитокератину 19, количество соответствующих белков определяли методом вестерн-блоттинга. Экспрессию генов sox9, fn14, tweak определяли методом ПЦР-РВ.



Результаты. В печени крыс после субтотальной резекции (80% массы органа) обнаружено увеличение содержания белка SOX9, а также появление клеток с морфологией гепатоцитов, которые экспрессировали SOX9. С помощью ПЦР-РВ было обнаружено повышение экспрессии гена *sox9*, а так же экспрессии генов *fn14* и *tweak*, которые кодируют молекулы сигнального пути, регулирующего активацию резидентных прогениторных клеток. При этом мы не обнаружили в печени клеток с промежуточным фенотипом, а клетки экспрессирующих цитокератин 19 располагались только в составе эпителия желчных протоков.

Выводы. На основании полученных данных невозможно полностью исключить участие резидентных прогениторных клеток или репрограммирования гепатоцитов в регенерации печени после субтотальной резекции, однако данные процессы, видимо, вносят незначительный вклад. Ведущим клеточным механизмом восстановления массы печени после субтотальной резекции является пролиферация гепатоцитов.

Данная работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (Соглашение 14-04-01224 от 26 декабря 2013 года) и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (№ 14.120.14.6239 от 3 февраля 2014 года).

АНГИОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ МСК ПРИ ТКАНЕВЫХ ЗНАЧЕНИЯХ КИСЛОРОДА

Ездакова М.И., Жидкова О.В., Ударцева О.О.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия

В настоящее время мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются перспективным инструментом в регенеративной терапии, в том числе для восстановления микроциркуляции при повреждении за счет их паракринной активности. Ангиогенный потенциал МСК в первую очередь обусловлен их способностью активировать миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток (ЭК). Известно, что короткий гипоксический стресс индуцирует увеличение ангиогенной активности МСК, культивируемых в условиях нормоксии (20% O₂). В нише, которую занимают МСК, содержание кислорода не превышает 7%. Следовательно, культивирование МСК в условиях пониженного содержания O₂ является более физиологичным, чем при 20% O₂. Однако ангиогенные свойства МСК при тканевых значениях O₂ практически не исследованы.

В экспериментах использовали МСК, постоянно культивируемые при 20% O₂ и 5% O₂. Влияние кондиционированной среды (КС) от МСК на ненаправленную миграцию ЭК *in vitro* определяли в модели механического повреждения монослоя. Оценку ангиогенной активности КС *in vivo* проводили на хориоаллантоисной оболочке (ХА) яиц японского перепела. Концентрацию цитокинов (VEGF, MCP-1, IL-6, 8), определяли с помощью иммуноферментного анализа.

При 5% O₂ в КС отмечалось увеличение концентрации ангиогенных факторов VEGF, MCP-1 и IL-6, 8 по сравнению с МСК в 20% O₂. КС как от нормоксических так и гипоксических МСК стимулировала миграцию ЭК, причем при 5% O₂ этот эффект был более



выражен. При добавлении КС к ХА отмечено увеличение количества сосудов, при этом действие среды от МСК в 5% O_2 , по сравнению с 20% O_2 , было в 1,5 раза более значимым. Это хорошо соотносится с описанными изменениями концентрации основных ангиогенных медиаторов в КС.

Таким образом, по сравнению с 20% O_2 , постоянное культивирование при тканевых значениях O_2 повышает способность МСК активировать миграцию ЭК *in vitro* и стимулировать рост кровеносных сосудов *in vivo* за счет более выраженной паракринной активности.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-15-00693)

ВЛИЯНИЕ КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ НА ТЕЧЕНИЕ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧ- НОСТИ

Жгутов Ю.А., Склифас А.Н., Рогов К.А., Темнов А.А.

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино
ГКБ №4, Москва
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА, Москва
МФТИ, Долгопрудный
НИИ Скорой помощи им. Н.В.Склифосовского

Актуальность: миллионы пациентов во всем мире страдают от терминальной стадии патологии печени. По состоянию на 31 декабря 2013 года в США, более 15027 кандидатов было зарегистрировано в листе ожидания (ЛО), из них 1767 пациентов умерли в ожидании трансплантации печени (ТП). Наиболее быстрым течением обладает острая форма печеночной недостаточности (ОПН). Ацетаминофен (Ац)-индуцированная гепатотоксичность является основной причиной ОПН в США и странах Европы.

Цель: необходимо оценить возможные альтернативы ТП, и разработать новые терапевтические методы борьбы с ОПН.

Материалы и методы: Изучено влияние препарата, состоящего из кондиционированной культуральной среды, полученной при культивировании мезенхимальных стволовых клеток (МСК), на Ац-индуцированную ОПН. Для моделирования ОПН были использовали мышей-самцов линии CD1 массой 22-24 гр. Всем животным вводился внутривентрально Ац в дозе 350 мг/кг. Группе контроля №1 (n=15), внутривентрально вводили 1 мл КС, группе №2 (n=15) вводили 1 мл кМСК (концентрация белка 1 мг/мл). Материалы для гистологического и биохимического исследований забирали через 4, 24, 48 часов и через 7 и 12 суток после введения Ац.

Результаты: данные биохимического исследования показали, что кМСК, при введении острый период достоверно снижает уровень АСТ и АЛТ (АЛТ 4 часа после введения Ац: в группе №1 – $2508,0 \pm 243,0$ Ед/л, в группе №2 – $54,2 \pm 18,5$ Ед/л; средние значения АСТ 4 часа: в группе №1 – $1275,7 \pm 110,4$ Ед/л, в группе №2 – $105,95 \pm 10,1$ Ед/л). Значения АСТ и АЛТ в группе №2 достоверно не отличается от значений у интактных животных ($98,5 \pm 12,0$



и $85,0 \pm 14,0$). Через 24 часа уровень ферментов в группе №1, снизился, но, значительно превышал нормальные значения. В тоже время уровень АЛТ и АСТ в группе №2 повысился по сравнению уровнем интактных животных, но оставался ниже уровня контроля в 3 раза для АЛТ и примерно в 2 раза для АСТ. При анализе гистологических препаратов было отмечено, что кМСК значительно снижает уровень воспаления, уменьшает зоны некроза, а также повышает количество митозов в первые часы после применения. Через 24 часа уровень ферментов также остается значительно повышенным в группе контроля, а уровень ферментов в группе, где проводилась лечение кМСК, приближается к нормальным значениям.

Выводы: полученные данные говорят о перспективности данного исследования, в разработке нового препарата для лечения ОПН.

ТКАНЕВЫЙ ХРОМОСОМНЫЙ МОЗАИЦИЗМ У МОНОЗИГОТНОЙ ТРОЙНИ ПРИ РАННЕЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ

ЗАРЕЦКАЯ Н.В., НИЗЯЕВА Н.В., МУРАВЕНКО О.В., СТУПКО О.К. ,
АНДРОНОВА Н.В., ХОДЖАЕВА З.С., МЕШАЛКИНА И.В., КАН Н.Е.,
НАГОВИЦЫНА М.Н., ЩЁГОЛЕВ А.И.

ФГБУ НЦАГИП им. В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия

Роль хромосомного дисбаланса плаценты в развитии ранней преэклампсии хорошо известна, однако влияние тканевого мозаицизма плода на проявление данной акушерской патологии практически не изучено. Исследование было проведено на образцах тканей плаценты и тканей плодов, полученных посредством кесарева сечения от пациентки 35 лет с беременностью монохориальной триамниотической тройней, 19–20 недель гестации, наступившей после ЭКО и переноса одного эмбриона, по поводу внутриспечёночного холестаза, ранней преэклампсии. Извлечены три мертвых плода мужского пола, массой 196 г, 231 г и 201 г. При макроскопическом исследовании отмечались множественные признаки дисэмбриогенеза плодов: микроретрогнатия, длинный фильтр, короткий вздернутый нос, стопы – «качалки», – фенотип синдрома Эдвардса. При патологоанатомическом исследовании врождённые пороки развития внутренних органов плодов не определялись. Послед от монохориальной триамниотической тройни, с краевым прикреплением пуповины I плода и единственной артерией пуповины III плода. При молекулярно-генетическом обследовании методом FISH с зондами на хромосомы X, Y, 18, 9, 6, 1, установлено наличие множественного тканевого мозаицизма по хромосомам X, 18, 9, 1 в образцах плаценты, а также тканей плодов: тимуса, головного мозга, печени (представляющие собой производные закладки разных зародышевых листков). Результаты приведены в таблице.



		Половые хромосомы	18 хромосома	9 хромосома	6 хромосома	1 хромосома
I плод Оболочечное прикрепление пуповины	Плацента 1	XY	Моносомия – 25% Трисомия – 20%	Моносомия – 9%	Дисомия	–
	Тимус 1	XY	Моносомия – 45%	Дисомия	Дисомия	Дисомия
	Головной мозг 1	XY	Моносомия – 44%	Моносомия – 12%	–	–
	Сердце 1	XY	Моносомия – 14%	Дисомия	Дисомия	Дисомия
	Печень 1	XY / X0 [11,5%]	Моносомия – 10%	Дисомия	Дисомия	Дисомия
II плод	Плацента 2	XY / X0 [26%]	Моносомия – 23% Трисомия – 25%	Моносомия – 16%	Дисомия	–
	Тимус 2	XY / X0 [27%]	Трисомия – 11%	Дисомия	Дисомия	Дисомия
	Головной мозг 2	XY	Моносомия – 15% Трисомия – 12%	Дисомия	–	–
	Сердце 2	XY	Дисомия	Дисомия	Дисомия	Дисомия
	Печень 2	XY	Моносомия – 19%	Моносомия – 68%	Дисомия	Дисомия
III плод Единственная артерия пуповины, многоводие	Плацента 3	XY / X0 [11%]	Дисомия	Дисомия	Дисомия	–
	Тимус 3	XY	Моносомия – 29%	Дисомия	Дисомия	Дисомия
	Головной мозг 3	XY / X0 [36%]	Моносомия – 17%	Моносомия – 92%	–	–
	Сердце 3	XY	Дисомия	Дисомия	Дисомия	Дисомия
	Печень 3	XY	Моносомия – 16%	Моносомия – 90%	Дисомия	Дисомия

Таким образом, вероятным предрасполагающим фактором в генезе ранней манифестации презкламписи может являться множественный хромосомный мозаицизм тканей плодов и плаценты. В представленном наблюдении отсутствие анеуплоидий в ткани сердца, очевидно, дало возможность роста и развития плодов. В подобных случаях, при планировании следующей беременности считаем необходимым генетическое репродуктивное консультирование, применение предимплантационной полногеномной диагностики эмбрионов, а также использование донорских гамет.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ

ЗАСОРИН Б.В., КУРМАНГАЛИЕВ О.М.

РГКП Западно-Казахстанский государственный медицинский университет им. М. Оспанова, г. Актюбинск, Казахстан.

Актуальность. Увеличение продолжительности жизни населения требует повышения качества жизни пожилых людей. Одним из способов достижения необходимого результата являются средства, применяемые в регенеративной медицине.

Цель исследования: оценить эффективность применения клеток костного мозга для коррекции возрастных изменений.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 80 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 2,4 года разделённых на две группы. Животным первой группы вводились аллогенные клетки костного мозга (АККМ), выделенные из бедренных костей двухмесячных крысят. Введение АККМ животным данной группы осуществляли внутрибрюшинно, в объёме 1,0 мл, с концентрацией клеток 20×10^6 кл/мл. Животные второй группы служили контролем. Учёт результатов осуществляли через 2 и 4 месяца после введения клеток. Для оценки функционального состояния семенников определяли плотность и формы спермиев (активно-подвижные, аномальные). Кроме того оценивался ряд поведенческих реакций (двигательная и эмоциональная активность, груминг).

Результаты. Через 2 месяца показатели сперматогенеза улучшились в 2 – 3,4 раза (общее количество сперматозоидов, их подвижность, уменьшение аномальных форм). Так же, в 1,8 – 2,8 раза повысилась двигательная и эмоциональная активность животных. Улучшились показатели груминга. Достигнутые результаты сохранялись и через 4 месяца.

Выводы: 1. Введение АККМ улучшает показатели качества жизни животных. 2. комплексный анализ показал улучшение всех изученных показателей сперматогенеза и поведенческих реакций. 3. Достигнутые результаты носят стабильный характер.

ПОЛУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЭНДОТЕ- ЛИАЛЬНЫХ И ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ИЗ МАТЕРИАЛА КАРДИАЛЬНЫХ ЭКСПЛАНТОВ ЧЕЛОВЕКА

ЗАХАРОВА И.С.^{1, 2, 3}, ШЕВЧЕНКО А.И.^{1, 2, 3}, ЖИВЕНЬ М.К.^{1, 2, 3}, САЯ Ш.Б.³, СТРУНОВ А.А.¹, СМЕРНОВА А.М.^{1, 3, 4},
КАРПЕНКО А.А.³, ПОКУШАЛОВ Е.А.³, ИВАНОВА Л.Н.^{1, 4},
ЗАКИЯН С.М.^{1, 2, 3, 4*}



- 1 – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»
- 2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН;
- 3 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ;
- 4 – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»

Неудовлетворительные отдаленные показатели синтетических протезов сосудов малого диаметра при лечении стено-окклюзионных заболеваний сердечно-сосудистой системы, количественная ограниченность аутологичных сосудов делают необходимым развитие тканеинженерных клеточно-наполненных сосудистых трансплантатов. Разработан протокол получения эндотелиальных и гладкомышечных клеточных популяций из доступного послеоперационного материала кардиальных эксплантов человека – миокарда выходного отдела правого желудочка. Молекулярно-генетическая характеристика полученных клеток показала, что обогащенная культура из материала кардиальных эксплантов человека содержит функционально полноценные эндотелиоциты, обладающие ангиогенной активностью, и гладкомышечные клетки. Полученные клеточные популяции демонстрируют функциональные свойства *in vivo* на модели иммунодефицитных мышей. Данные клетки могут быть использованы для разработки тканеинженерного сосудистого трансплантата. Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00082

ТЕХНОЛОГИИ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

Васильев Р.Г.^{1,2}, Оксимец В.М.², Родниченко А.Е.^{1,2},
Злацкая А.В.^{1,2}, Губарь О.С.², Оксимец В.В.², Зубов Д.А.^{1,2}

1 – ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН
Украины», Киев, Украина

2 – Медицинская компания ilaya®, Киев, Украина

Актуальность. Лечение аваскулярного остеонекроза (АВН) головки бедренной кости, длительно неконсолидирующихся переломов и дефектов кости критического размера является актуальной нерешенной проблемой.

Цель: оценить эффективность методов регенеративной медицины для данных патологий.

Материалы и методы. Клеточная терапия или трансплантация ткане-инженерного эквивалента кости (ТИЭК) на основе аутологичных культивированных клеток была использована нами для лечения: 14 пациентов – АВН I-II, 13 – АВН II-III с субхондраль-



ным переломом; 28 пациентов – неконсолидирующиеся переломы; 14 (гражданская высокоэнергетическая травма) и 25 пациентов (боевая травма) – дефекты кости критического размера. Для клеточной терапии использовали ММСК костного мозга. ТИЭК конструировали из: ММСК костного мозга, остеопрогениторных клеток периоста и эндотелиальных клеток-предшественниц. В качестве носителя использовали децеллюляризованную аллогенную кость (блоки/чипсы) в сочетании с аутологичным фибриновым гидрогелем.

Результаты. Окрашивание FDA/PI и гистологический анализ образцов ТИЭК показали их равномерный засев живыми клетками. В результате лечения АВН мы получили восстановление кости и функции сустава в 26 случаях. Консолидация переломов произошла у всех пролеченных пациентов. При трансплантации ТИЭК для лечения дефектов кости критического размера целостность кости была восстановлена у всех пациентов с гражданской (14 человек) и боевой травмой (25 человек, 28 дефектов). Патоморфологический анализ биоптатов ТИЭК через 3 месяца после трансплантации показал их интенсивное ремоделирование и формирование молодой костной ткани. Рентгенографически полное восстановление дефекта наблюдалось через 4-8 месяцев у всех пролеченных пациентов.

Выводы. Технологии регенеративной медицины показали высокую эффективность в восстановлении поврежденной костной ткани при данных патологиях.

SPRS-ТЕРАПИЯ: РЕГЕНЕРАЦИЯ КОЖИ И КОРРЕКЦИЯ ЕЁ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ. ИТОГИ ВНЕДРЕНИЯ НА РЫНОК ЭСТЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Зорин В.Л., Зорина А.И., Исаев А.А.

Институт стволовых клеток человека, Москва

SPRS-терапия® (от англ. Service for Personal Regeneration of Skin) – представляет собой комплекс персонифицированных лечебно-диагностических процедур для восстановления кожи с признаками возрастных и иных структурных изменений. Основана SPRS-терапия на технологии использования аутологичных (собственных) фибробластов кожи пациента – клеточной технологии, разрешенной к применению в эстетической медицине РФ (ФСН№200 9/308 от июля 2010). На рынок эстетической медицины РФ SPRS-терапия выведена публичной биотехнологической компанией Институтом стволовых клеток человека в январе 2011 года. Услуга предоставляется через косметологические клиники (сотрудничество с клиниками в 14 городах РФ и СНГ) и к настоящему времени общее количество пациентов составляет более 550, при этом более 50% пациентов после лечения кожи одной области обратилось повторно (два и более раз) для лечения кожи других областей.

Успешному выведению данной клеточной технологии на рынок эстетической медицины предшествовало проведение многочисленных доклинических и клинических исследований, доказавших ее безопасность и клиническую эффективность (как резуль-



тат – более 30 публикаций в профессиональных как отечественных, так и зарубежных журналах; технология защищена 5 патентами).

Результаты проведенных исследований позволили заключить, что после трансплантации в кожу культивированные аутофибробласты полноценно интегрируются в дерму, их биосинтетическая активность сохраняется не менее 12 месяцев. Как следствие, наблюдается ремоделирование микроструктуры дермы, выражающееся в увеличении содержания в ней коллагеновых волокон, увеличении гидратации и толщины дермы, усилении функциональной гемомикроциркуляции. Клинически перечисленные изменения в микроструктуре дермы проявляются увеличением упругости, эластичности и толщины кожи, уменьшением количества и глубины морщин. Клинический эффект имеет нарастающий (на протяжении 6-8 месяцев) характер и сохраняется как минимум в течение 2-х лет.

Результаты постмаркетинговых исследований, проведенных через год после применения технологии в клиниках, подтвердили безопасность и клиническую эффективность применения SPRS-терапии для коррекции возрастных изменений кожи.

МОДУЛЯЦИЯ СОСТАВА КОЛЛАГЕНОВЫХ ГЕЛЕЙ ПРИ СОЗДАНИИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

ИВАНОВА Е.А., ЮДИНЦЕВА Н.М., СМАГИНА Л.В.,
НАЩЕКИНА Ю.М., ВОРОНКИНА И.В.

ФГБНУ ИНЦ РАН, Санкт-Петербург; Россия

Актуальность. Проблема реконструкции тканей является одной из задач фундаментальной биологии. Клеточная терапия может осуществляться путем трансплантации живых эквивалентов тканей, предварительно созданных *in vitro*. Состав и организация внеклеточного матрикса (ВКМ), синтезируемого фибробластами ткани, является специфичным для каждого органа или ткани. Возможность регулировать биохимический состав ВКМ, синтезируемого клетками в искусственных тканевых заместителях, может способствовать созданию адекватного микроокружения, необходимого для формирования здоровой ткани на месте повреждения.

Целью работы являлось изучение синтеза компонентов ВКМ человека при 3D культивировании клеток в коллагеновых гелях различного состава.

Материалы и методы: в работе использовали фибробласты дермы человека и мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Клетки культивировали в 3D гелях на основе коллагена I типа с введением мажорных белков ВКМ (ламинина 2, фибронектина, коллагена IV типа). ВКМ визуализировали с помощью конфокальной микроскопии. количественный анализ ВКМ проводили методом вестерн-блота.

Результаты. Проведен сравнительный качественный и количественный анализ белков ВКМ, синтезируемых фибробластами и МСК, в среде культивирования и в самих гелях. Показано, что накопление ВКМ по мере культивирования клеток в составе 3D коллагенового геля зависит от добавок, вводимых в состав такого геля. При этом новообразованные белки ВКМ стимулируют синтез фибробластами и клетками МСК других компонентов ВКМ,



изменяя соотношение компонентов ВКМ в получаемых гелях.

Выводы. Полученные результаты позволяют обогащать конечный состав коллагенового геля компонентами ВКМ в ходе культивирования клеток при изменении его первоначального состава. Полученные результаты будут использованы при создании клеточных продуктов, наиболее подходящих по составу к замещаемой ткани.

Работу выполнена на средства гранта РНФ №14-50-00068 и гранта РФФИ №13-04-12027.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛНОТЫ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ РАНЫ НА СПИНЕ И ЖИВОТЕ КРЫС.

Кананыхина Е.Ю.^{1,2}, Большакова Г.Б.¹

1 – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», г. Москва

2 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова» МЗ РФ, г. Москва

Исследование механизмов восстановления поврежденных органов млекопитающих требует использования адекватных экспериментальных моделей. Целью нашей работы было разработать и количественно охарактеризовать воспроизводимую модель заживления кожи живота крыс с оценкой вставочного роста.

Материалы и методы. Эксперимент был поставлен на 40 крысах самцах линии Sprague Dawley весом 250-300 г. Животные были разделены на 2 группы с нанесением раны на спине и на животе. Хирургическими ножницами вырезали круглый полнослойный кожный лоскут диаметром 16 мм. Затем наносили татуировку в виде двух окружностей, отстоящих на 5 мм и 10 мм от краев раны. Оценку изменения площади раневой поверхности и околораневой зоны проводили в программе Adobe Photoshop CS. Для гистологического исследования материал брали на 7-е, 14-е, 20-е и 30-е сутки после операции. Статистический анализ полученных данных проводили при помощи программного пакета SigmaStat 3.5.

Результаты. Нами было показано, что ход заживления полнослойной раны на спине и животе сильно различается. К 30-м суткам после повреждения на спине образовывался истонченный соединительнотканый рубец. На животе рубец был значительно меньше и не отличался по толщине от интактной кожи. В процессе репарации на спине образовывался жесткий струп, который отпадал к 30-м суткам после операции; на животе рана закрывалась без образования струпа на 14-е сутки после вырезания кожного лоскута. При заживлении кожи живота крыс коллагеновые фибриллы на 7-й день после операции образовывали ячеистую структуру, как в интактной коже живота. На спине волокна коллагена были плотно упакованы, что характерно для зрелой рубцовой ткани. В зоне повреждения на спине преобладал коллаген I, а на животе – коллаген III. При заживлении раны на спине на 20-е сутки мы наблюдали сильное утолщение околораневой зоны и области повреждения, возможно, за счет активного вставочного роста и накопления



внуклеточного матрикса, но к 30-м суткам область повреждения значительно истончилась, по-видимому, в результате ремоделирования рубца. На коже живота резкого утолщения околораневой области не отмечали в течение всего срока наблюдения. Возможно, в этой области уровень деградации внуклеточного матрикса иной, чем при восстановлении раны спины.

Выводы

Нами разработана и охарактеризована новая модель регенерации раны кожи на животе, отличающаяся большей полнотой регенерации по сравнению с классической моделью раны кожи на спине. Динамика ее заживления имела следующие особенности:

1) Несмотря на значительное увеличение площади раны сразу после вырезания кожного лоскута, рана на животе закрывалась уже на 14-е сутки, что достоверно быстрее, чем скорость закрытия раны на спине (к 30-м суткам).

2) Площадь околораневой зоны на животе восстанавливается быстрее, чем на спине (к 20-м суткам против 30-х суток).

3) Толщина раны и околораневой зоны на животе достигают исходной величины к 30-м суткам, в то время как рубец в зоне раны на спине к 30 суткам подвергается ремоделированию и истончается, а околораневая зона спины остается гипертрофированной.

4) На животе через 7 суток после операции в составе регенерата преобладает коллаген III типа, а на спине – коллаген I типа.

Таким образом, поскольку модели полнослойной раны кожи спины и живота различаются только по локализации повреждения, их сравнительный анализ позволит создать основу для изучения факторов, способствующих полноценной репаративной регенерации кожи взрослых млекопитающих.

БИОТЕХНОЛОГИИ В РЕГЕНЕРАЦИИ РОГОВИЦЫ

КАВЕЛИНА А.С., ПОПАНДОПУЛО А.Г.

ИНВХ им. В.К.Гусака, лаборатория клеточного и тканевого культивирования, Донецк

Актуальность. В настоящее время наука о трансплантации клеток и тканей остается одной из самых интенсивно развивающихся областей биологии и медицины. Офтальмологи часто сталкиваются с проблемой дефицита пересадочного материала для кератопластики. В связи с этим ведется поиск пересадочного материала, альтернативный донорской роговицы.

Цель. Цель исследования состояла в создании биоэквивалента поверхностных слоев роговицы путем послойного культивирования лимбальных и эпителиальных клеток роговицы человека на поверхности амниона и мягких контактных линзах.

Материалы и методы. Для проведения исследования были получены гомогенные культуры адгезивных к пластику лимбальных стволовых клеток и клеток плоского эпителия роговицы человека. Осуществляли культивирование на мягких контактных линзах с заданными параметрами кислородной проницаемости и влагосодержанием. Послойное



культивирование осуществлялось в течение 7 дней. На протяжении этого периода наблюдали за сменой активности пролиферации клеток, их морфологии, отмечали временные интервалы изменений характеристик клеточных культур.

Результаты. В течение всего процесса культивирования достигнуто формирование на поверхности амниотической оболочки полноценного монослоя с состоятельными межклеточными взаимосвязями и прочной связью с носителем. Биологические свойства эквивалента максимально приближены к характеристикам и свойствам живой ткани.

Выводы. С помощью данной методики, возможно, не только добиться восстановления зрения, но и исключить риск переноса опасных инфекций от донора реципиенту, исключить риск развития реакции отторжения, а также свести к минимуму иммуносупрессивную терапию. Данная модель, способна ускорять процессы репарации, выполнять функции, эквивалентные для нативной роговицы. Благодаря заданным параметрам амниона, возможно, сократить объем хирургического вмешательства, моделировать трансплантат не расширяя дефект роговицы. Имеющиеся результаты свидетельствуют о перспективности клинического использования метода.

СВС МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ СПЛАВОВ ТИТАНА ДЛЯ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

КАМИНИНА О.К.¹, СЫЧЕВ А.Е.¹, ВАДЧЕНКО С.Г.¹, УМАРОВ Л.М.¹,
ПЛАЩИНА И.Г.², ГРИГОРЬЯН А.С.³, СЕЛЕЗНЕВА И.И.⁴

1 – ФГБУН ИСМАН, г. Черноголовка, Россия

2 – ФГБУН ИБХФ РАН им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, Россия

3 – ФГУ «ЦНИИС и ЧЛХ Росмедтехнологий», г. Москва, Россия

4 – ФГБУН ИТЭБ РАН, г. Пущино, Россия

Одной из актуальных проблем медицины является создание биоматериалов для восстановления костной ткани. В настоящее время, в качестве костных имплантатов, широкое применение получают биокompозиты, которые сочетают в себе свойства металлов, полимеров и керамики.

Авторами проведены исследования по получению биосовместимых материалов на основе титана методами самораспространяющегося высокотемпературного синтеза (СВС). Коллективом авторов предложен новый подход обеспечению биологической совместимости имплантационных материалов на основе титановых сплавов, заключающийся в введении гидроксиапатита кальция в реакционную смесь в условиях СВС. Этот подход позволяет получать материалы, которые по своим свойствам приближены к костной ткани.

В рамках данной работы методом СВС синтезированы пористые материалы титан-кобальт-ГАП с заданными размером и распределением пор, проведены исследование взаимодействия полученных материалов с культурами мезенхимальных клеток в системе *in vitro* и исследование взаимодействия синтезированных материалов с тканями в системе *in vivo*.



В результате проведенных исследований были определены оптимальные параметры синтеза (дисперсность порошков, состав смеси, исходная плотность, начальная температура) пористых материалов Ti-Co-ГАП в условиях СВС. Синтезированный материал имеет пористую структуру, оптимальную для обеспечения миграции клеток и роста сосудов. Свойства поверхности порового пространства (размеры, шероховатость, элементный состав) способствуют адгезии и распластыванию клеток. Совокупность всех этих свойств позволяет таким материалам параллельно с опорной функцией, обеспечивать и биоинтеграцию – вращение клеток и сосудов в структуры имплантата.

РОЛЬ МСК В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИИ ЛАНДУЗИ-ДЕЖЕРИНА

КИСЕЛЕВА Е.В.¹, ДМИТРИЕВ П.², ХАРЧЕНКО О.А.¹, ВАСИЛЬЕВ А.В.¹,
ВАСЕЦКИЙ Е.С.²

1 – ФГБУН ИБР РАН, Москва, Россия

2 – UMR 8126, Univ. Paris-Sud, CNRS, Institut de Cancérologie
Gustave-Roussy, Villejuif, France

Актуальность. Мышечная дистрофия Ландузи-Дежерина (МДЛД) – наиболее распространенное наследуемое мышечное заболевание в Европе. При этой патологии происходит дистрофия мышечных волокон и замещение мышечной ткани жировой и соединительной тканью, что может быть следствием нарушения механизма регенерации, осуществляемого за счет способности мультипотентных стромальных клеток (МСК) к миграции и дифференцировке. Экспрессия гена DUX4 выявлена в скелетных мышцах больных МДЛД. Роль МСК в развитии МДЛД исследована не достаточно.

Цель работы – исследовать изменение мобильности МСК при гиперэкспрессии гена DUX4.

Материалы и методы. Работу проводили на МСК, первичных и immortalized миобластах человека. Трансфекцию клеток плазмидой, кодирующей ген DUX4 использовали для моделирования МДЛД in vitro. Миграцию МСК к миобластам исследовали в системе трансвелл с диаметром пор 8 мкм. Иммуноцитохимический, иммуноферментный анализ и нейтрализующие антитела к CXCR4 и SDF1α использовали для изучения механизма миграции МСК.

Результаты. Гиперэкспрессия DUX4 стимулирует синтез и секрецию трофического фактора SDF1α миобластами, а также экспрессию рецептора к этому фактору CXCR4 в МСК, но не влияет на адипогенную дифференцировку МСК. Миграция МСК к миобластам с гиперэкспрессией DUX4 увеличена по сравнению с контролем в 1,5-2 раза.

Выводы. МСК могут участвовать в замещении мышечной ткани фиброзной при развитии МДЛД за счет миграции в патологический очаг. Миграция МСК обусловлена увеличенной секрецией трофического фактора SDF1 пораженными миобластами и усиленной экспрессией рецептора CXCR4 в МСК.



НЕИНВАЗИВНЫЙ КОНТРОЛЬ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ С ПОМОЩЬЮ ЛАЗЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ОЦЕНКИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНО-ТКАНЕВЫХ СИСТЕМ

Крупаткин А.И.¹, Сидоров В.В.²

1 – ФГБУ ЦИТО им. Н.Н. Приорова МЗ РФ

2 – НПП «Лазма»

Актуальность и цель. В современной клинической медицине крайне скуден выбор методов неинвазивного контроля регенерации тканей. В то же время общеизвестна физиологическая закономерность сопряженности активации регенерации тканей и их микроциркуляции, необходимой для снабжения регенерирующих структур кислородом и метаболитами. Целью работы явилось обобщить многолетний опыт использования неинвазивных лазерных технологий оценки микроциркуляторно-тканевых систем для контроля посттравматической регенерации тканей в клинике.

Материалы и методы. Обследованы 70 пациентов с регенераторным остеогенезом (34 больных с ложными суставами и замедленно консолидирующимися переломами костей конечностей до и после хирургического лечения, 15 больных в процессе удлинения костей нижних конечностей, 21 пациент с посттравматическими оссификатами костей) и регенерацией периферических нервов (120 пациентов с повреждениями нервов конечностей). Оценка микроциркуляторно-тканевых систем проводилась в коже в проекции регенерирующей костной ткани и в зонах иннервации поврежденных нервов с помощью лазерной доплеровской флоуметрии микрогемодикуляции со спектральным вейвлет-анализом колебаний кровотока, лазерной спектрофотометрии метаболизма (определение НАД-Н, ФАД и редокс-соотношения), лазерной оценки микролимфотока.

Результаты и заключение. Показано, что активация микроциркуляторно-тканевых систем реализуется в ранние сроки регенераторного процесса – уже через 2 недели и более после операции на кости и в доклиническую стадию регенерации периферических нервов. Для ранних периодов регенерации характерны перестройка регуляции микрососудов в трофотропном направлении (возрастание вклада миогенной и/или сенсорной пептидергической регуляции нутритивного русла и увеличение доли нутритивного кровотока в гемодинамике), увеличение энергетики осцилляций кровотока, активация окислительного метаболизма, несколько позднее присоединялся достоверный прирост величины общей перфузии микрососудов и выраженное увеличение амплитуд пейсмерных колебаний микролимфодинамики. Вышеуказанная динамика неспецифична и проявлялась как при регенерации костной, так и нервной ткани. Основными критериями несостоятельности или неблагоприятного течения регенераторного процесса служили длительное (более 2 месяцев) сохранение гипoadaptивных сдвигов микроциркуляторного русла с отсутствием трофотропного доминирования в структуре регуляции микроциркуляции. Диагностическая эффективность использования лазерных технологий для контроля в ранние сроки регенерации костной ткани составила 84,3%, для регенерации периферических нервов – 91,6%.



СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТЕО- ГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА МСК ЖТ И ТП

Квачева З.Б., Василевич И.Б., Полешко А.Г.,
Волотовский И.Д.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь

Внезародышевые ткани, а именно, ткань пуповины (ТП) сравнительно новый источник получения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для их накопления в достаточной терапевтической дозе для применения в регенеративной медицине. МСК ТП, имея сходство по фенотипу и морфофункциональным особенностям с МСК костного мозга и жировой ткани (ЖТ), обладают большей пролиферативной активностью при культивировании *in vitro*.

Целью наших исследований явилось сравнить остеогенный дифференцировочный потенциал МСК ТП и ЖТ, при культивировании их в индукционной среде.

МСК ЖТ и ТП (Вартонов студень) культивировали в течение 3 пассажей. В экспериментах по дифференцировке использовали клетки с типичным для МСК фенотипом CD73+/CD90+/CD105+/CD45-/CD34-. Индукцию остеогенной дифференцировки осуществляли при культивировании клеток в питательной среде α -MEM и 10% ФБС с добавлением 10⁻⁷ М дексаметазона, 10 мМ β -глицерофосфата, 0,2 мМ аскорбиновой кислоты, 50 нг/мл BMP2 (костный морфогенетический белок) в течение 14 сут.

При культивировании МСК ЖТ и ТП в индукционной среде к 7 сут в культурах появлялись клетки характерной для остеобластов полигональной формы, при этом в МСК ТП на 2-3 сут раньше. К 14 сут в монослое клеток обеих культур формировались остеогенные островки. Остеогенная дифференцировка в культурах МСК подтверждена образованием фосфатов кальция при окраске ализариновым красным, а также экспрессией генов щелочной фосфатазы, остеопонтина, остеокальцина. Экспрессия маркеров остеогенной дифференцировки на 14 сут имела более выраженный характер в индуцированной культуре МСК ТП, в особенности гена остеокальцина.

Таким образом, МСК ТП (Вартонов студень) имеют более высокий остеогенный дифференцировочный потенциал, чем МСК ЖТ, и могут рассматриваться в качестве перспективного компонента для создания тканеинженерных конструкций при восстановлении опорно-двигательного аппарата или утраченных скелетных тканей.



ЛЕЧЕБНЫЙ ЭФФЕКТ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ КОНДИЦИОННОЙ СРЕДЫ И ДЕТОНАЦИОННЫХ НАНОАЛМАЗОВ ПРИ КАРДИОМИОДИСТРОФИИ У КРЫС

Коноплянников А.Г.¹, Филимонова М.В.¹,
Коноплянников М.А.², Чеснакова Е.А.¹, Корнеева Т.С.¹,
Самсонова А.С.¹, Кальсина С.Ш.¹, Лепехина Л.А.¹,
Попучиев В.В.¹

1 – МРНЦ им. А.Ф.Цыба, филиал «НМИРЦ» МЗ РФ, Обнинск, Россия

2 – ФНКЦ ФМБА России, Ореховый бульвар, 28, Москва, Россия

Актуальность. Недостаточная эффективность существующих методов лечения тяжелых больных с поражениями сердечной мышцы порождает необходимость внедрения новых клеточных медицинских технологий.

Цель. Протестировать возможный терапевтический эффект трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток (МСК), кондиционной среды (КС) от МСК, и комплексов КС и детонационных наноалмазов после индуцированной доксорубицином кардиомиодистрофии крыс.

Материалы и методы. У крыс-самцов породы Вистар (180–200 г) индуцировали кардиомиодистрофию введением доксорубицина (троекратное, в общей дозе 10 мг/кг). Лечебный эффект в экспериментальных группах животных (после введения МСК, КС, комплексов КС и наноалмазов) был изучен методом электрокардиографии (до введения доксорубицина и через 14, 31 и 62 суток после введения препарата).

Результаты. Введение доксорубицина вызывало у всех животных отчетливые признаки миокардита и у нелеченных животных через 2 месяца после введения доксорубицина регистрировались выраженные признаки кардиомиопатии. Введение КС обеспечивало относительно слабый лечебный эффект, а введение детонационных наноалмазов не показывало значимого лечебного эффекта. Выраженный лечебный эффект был выявлен после внутривенной трансплантации МСК и после введения комплексов КС и детонационных наноалмазов, причем лечебный эффект превышал эффект МСК.

Выводы. Мы продемонстрировали выраженный терапевтический эффект трансплантации МСК и комплексов на основе КС от МСК и детонационных наноалмазов на модели индуцированной доксорубицином кардиомиодистрофии крыс. Можно предположить, что лечебный эффект комплекса связан с доставкой наночастицами паракринных факторов (большой набор цитокинов и ростовых факторов), содержащихся в кондиционной среде из под культур МСК, в поврежденные доксорубицином ткани сердечной мышцы.



КОМПЛЕКСНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ КАК ОСНОВА РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ФИЗИОТЕРАПИИ

Кончугова Т.В., Ильинская Г.В., Пузырева Г.А., Володина
Ю.Л., Королев Ю.Н., Кульчицкая Д.Б.

ФГБУ «Российский научный центр медицинской реабилитации
и курортологии» Минздрава России, Москва, Россия

К настоящему времени накоплены данные, демонстрирующие способность различных физических факторов значительно изменять важные свойства мезенхимальных стволовых клеток (МСК) как в культуре, так и *in vivo*. Показано, что физические воздействия могут повышать скорость миграции и пролиферативную активность, стимулировать дифференцировку стволовых клеток, способствовать увеличению количества эндогенных стволовых клеток, выделяемых костным мозгом в кровь, повышать физиологическую устойчивость и жизнеспособность стволовых клеток при их трансплантации, способствовать активации направленной миграции стволовых клеток и индукции различных факторов роста и цитокинов. Следовательно, актуальной научной проблемой является изучение механизмов этих процессов и потенциала различных физиотерапевтических методов для модуляции терапевтических свойств МСК. Результаты исследований последних лет свидетельствуют о принципиальной возможности комплексного использования стволовых клеток и различных физических факторов с целью ускорения регенерации поврежденных тканей. Известно, что, чем активнее пролиферация МСК, тем выше их регенеративный и ранозаживляющий потенциал. Следовательно, возникает необходимость дотрансплантационной обработки МСК с помощью методов, не повреждающих клетки, сохраняющих их уникальные свойства и позволяющих повысить уровень пролиферации. Возможно также эффективное воздействие лечебными физическими факторами на этапе после трансплантации МСК. Таким образом, результаты проведенных научных исследований могут служить основанием для использования в регенеративной медицине более широкого спектра физических факторов различной природы, а решение этих важных проблем возможно лишь в рамках нового мультидисциплинарного направления – регенеративной физиотерапии.

ЗАДАЧИ ИК-ВИЗУАЛИЗАЦИИ СОСТОЯНИЯ МИКРО- ЦИРКУЛЯЦИИ В РУБЦОВЫХ ТКАНЯХ ПРИ ИСПОЛЬ- ЗОВАНИИ ЛИПОФИЛИНГА И КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНО- ЛОГИЙ

Короткова Н.Л., Воловик М.Г.

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследователь-
ский центр» МЗ России, Нижний Новгород, Россия



Разработка технологий визуализации состояния микроциркуляции покровных тканей для оценки динамики их функционального состояния актуальна в современной регенеративной медицине [Onodera R. et al., 2011]. Это особенно важно для контроля процессов регенерации в режиме мониторинга [Schwartz R.G., 2015].

Цель: предложить подходы для разработки технологии мониторингирования функционального состояния микроциркуляции рубцовых тканей при проведении комплексной реабилитации больных с последствиями ожогов с использованием липофилинга и клеточных технологий.

Мы предлагаем решить следующую последовательность задач:

1. Разработать методику оценки компенсаторных резервов микроциркуляции в рубцовых тканях с целью оптимального планирования пластических операций. Методы решения: ИК термокартирование; ЛДФ; computer vision и machinelearning.

2. Изучить влияние комплексного использования аутожира и стволовых клеток (ASCs-клеток) на результаты реконструктивно-восстановительного лечения при коррекции послеожоговых рубцов. Методы решения: ультразвуковые измерения и морфологические исследования прослойки жировой ткани и васкуляризации кожных покровов; ИК-термокартирование; ЛДФ в до- и послеоперационном периоде.

3. Оценить эффективность процедуры липофилинга (без и с применением ASCs-клеток при различных характеристиках рубцовых тканей). Методы решения: клинические исследования с применением Ванкуверской шкалы оценки состояния рубцовых тканей; ультразвуковые измерения прослойки жировой ткани при реконструкции покровных тканей; морфологические исследования реконструируемых кожных покровов; ИК-термокартирование и ЛДФ-исследования состояния микроциркуляции рубцовых кожных покровов в до- и послеоперационном периоде.

Конечная цель – разработка системы поддержки принятия решения при выборе метода реконструкции с помощью ИК визуализации состояния микроциркуляции пораженных кожных покровов на этапах реконструктивно-восстановительного лечения.

РЕГЕНЕРАЦИЯ МИКРООКРУЖЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ПРИМЕРЕ СПЕРМАТОГЕННОЙ СИСТЕМЫ

Кулибин А.Ю., Малолина Е.А., Озернюк Н.Д.

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

В последнее время идея использования стволовых клеток для трансплантации с целью репарации различных нарушений получила широкое распространение. Однако часто такой подход не приводит к эффективному восстановлению поврежденной ткани. Одна из причин этого – нарушение структуры и функции микроокружения стволовых клеток. Поэтому целью работы стало изучение возможности использования для репарации ткани клеток микроокружения на примере сперматогенной системы.



На модели повреждения семенника мыши в ходе герпесвирусной инфекции показано, что трансплантация стволовых сперматогонимальных клеток (ССК) совместно с клетками их микроокружения – клетками Сертоли (КС), полученными от неонатальных животных, приводит к восстановлению сперматогенной ткани за счет формирования КС новых семенных канальцев. В 50,4% новых канальцев инициировался сперматогенный процесс за счет активности ССК. В 14,2% канальцев развитие половых клеток доходило до гаплоидных стадий. На модели двустороннего абдоминального крипторхизма у крыс продемонстрировано, что через 3 мес после трансплантации неонатальных КС в интерстиций семенника доля семенных канальцев с нормальным сперматогенезом составила 38%, а в контрольных группах не превышала 2%. В данном случае, по-видимому, имеет место паракринное воздействие трансплантированных клеток на поврежденное в результате крипторхизма микроокружение ССК.

В обеих описанных выше моделях используются КС, полученные от неонатальных животных – активно пролиферирующие клетки, обладающие способностью формировать семенные канальцы de novo. Известно, что КС половозрелых животных такими способностями не обладают. Однако нами обнаружена небольшая популяция КС, располагающаяся в зоне перехода семенных канальцев в сеть семенника, которая способна активно пролиферировать в культуре и обладает рядом других черт, характерных для неонатальных КС. Возможно, эта популяция КС, выведенная в культуру, сможет стать подходящим источником трансплантационного материала для восстановления поврежденного микроокружения стволовых клеток сперматогенной системы.

ВОЗМОЖНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ВОССТАНОВЛЕНИИ ЦЕЛОСТНОСТИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ СФИНКТЕРНОГО АППАРАТА ПРЯМОЙ КИШКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Кулинич С.С., Зафранская М.М., Шахрай С.В., Гаин М.Ю.,
Руденкова Т.В., Рябцева С.Н., Гаин Ю.М.

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

Стремительное развитие технологий клеточной трансплантации и тканевой инженерии открывает новые перспективы в лечении ряда заболеваний, в том числе, сопровождающихся нарушением структуры и функции мышечной ткани.

Цель исследования: оценить регенеративный потенциал культур гладкомышечных клеток, интактных и дифференцированных в миогенном направлении мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) на экспериментальной модели недостаточности терминального сфинктера желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы. МСК ЖТ и гладкомышечные клетки (ГМК) аорты крыс выделены из ткани с использованием коллагеназы I типа. Дифференцировка МСК в ГМК проводи-



лась в присутствии 5нг/мл трансформирующего фактора роста $\beta 1$ или 10мкМ ингибитора MEK-киназ (PD98059). Экспрессия миоспецифических маркеров исследовалась методом полимеразной цепной реакции. Регенеративный потенциал культур оценивался морфологически на модели анальной инконтиненции органической формы у лабораторных крыс на 21 сутки после внутримышечного введения клеток (1х10⁶ кл/кг) в зону повреждения.

Результаты. Дифференцированные МСК ЖТ имели сходный с ГМК профиль экспрессии мышечных маркеров (трангелин, гладкомышечный α -актин, кальпонин, миокардин и тяжелые цепи миозина гладких мышц), в отличие от интактных МСК, экспрессировавших только гладкомышечный α -актин. Введение клеток в зону повреждения сфинктера прямой кишки характеризовалось увеличением мышечного слоя стенки кишки за счет пролиферации ГМК. При этом, максимальная гиперплазия гладкомышечного слоя наблюдалась при введении интактных МСК ЖТ по сравнению с гладкомышечными и дифференцированными в миогенном направлении клетками ($p=0,01$).

Выводы. Учитывая влияние межклеточной кооперации и гуморальных факторов микроокружения в зоне повреждения на функции трансплантированных стволовых клеток, можно предположить, что регенеративный потенциал интактных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани обусловлен паракринным действием клеток.

Опубликовать в сборнике тезисов.

ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ТЕСКАЛЦИНА НА АДИПОГЕННУЮ И ХОНДРОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Колобынина К.Г.¹, Соловьева В.В.¹, Гомзикова М.О.¹,
Журавлева М.Н.¹, Тазетдинова Л.Г.¹, Слепак В.З.²,
Ризванов А.А.¹

1 – Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия

2 – Медицинская школа Миллера при Университете Майами, США

Белок тескалцин, относящийся к семейству EF-hand Ca^{2+} -связывающих белков, участвует в процессе дифференцировки различных клеток. Стволовые клетки, выделенные из жировой ткани, отличаются сравнительной доступностью и высоким пролиферативным потенциалом. Цель исследования — оценить влияние сверхэкспрессии тескалцина на дифференцировку мезенхимных стволовых клеток из жировой ткани человека (МСК-ЖТ).

Материалы и методы. МСК-ЖТ человека были выделены с помощью ферментативной обработки 0,2% раствором коллагеназы краба. Иммунофенотипирование МСК-ЖТ проводили с использованием специфичных антител к CD-маркерам МСК. МСК-ЖТ со сверхэкспрессией тескалцина были получены путем их генетической модификации с использованием рекомбинантных лентивирусов. МСК-ЖТ поддерживали в среде



для дифференцировки StemPro Adipogenesis Differentiation Kit (Gibco) 14 дней, 18 дней в StemPro Osteocyte/Chondrocyte Differentiation Basal Medium (Gibco) для хондрогенной дифференцировки. МСК-ЖТ окрашивали р-ром Oil Red O для адипогенной, альциановым синим для хондрогенной дифференцировки.

Результаты. Из жировой ткани человека были выделены МСК, экспрессирующие поверхностные антигены, характерные для МСК человека: CD44, CD73 и CD90. С помощью генетической модификации были получены МСК-ЖТ со сверхэкспрессией тескальцина и проведена их адипо- и хондрогенная дифференцировка. Показано, что в культуре МСК-ЖТ со сверхэкспрессией тескальцина наблюдалась значительно большая степень процесса дифференцировки клеток, по сравнению с контрольной культурой. Это может свидетельствовать о том, что эктопическая экспрессия тескальцина может влиять на процесс адипогенной и хондрогенной дифференцировки МСК-ЖТ.

Работа финансировалась грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований №15-44-02509.

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ОСЛОЖНЕННОЙ ХРОНИ- ЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Моком В.В., Немков, А.С., Белый С.А.

ГБОУ ВПО СПбГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия.

Актуальность: Ишемическая болезнь сердца до настоящего момента является актуальной проблемой. Несмотря на достижения современной медицины, существует достаточно большая группа пациентов, у которых применение только медикаментозных и/или хирургических методик не позволяет достичь значимого улучшения качества жизни. Ряд этих вопросов в настоящее время призвана решить клеточная терапия, исследования, в отношении которой проходят по всему миру. В частности использование аутологичных мононуклеаров костного мозга (АМНКМ) в лечении пациентов кардиологического профиля проводится на протяжении более 10 лет. Однако до настоящего момента многие вопросы остаются нерешенными.

Цель: Данное исследование направлено на оценку безопасности, эффективности, прогноза после проведенного комбинированного лечения пациентов с ишемической болезнью сердца осложненной хронической сердечной недостаточностью. Исследование зарегистрировано ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02059512 и проводится согласно утвержденному протоколу.

Материалы и методы: Исследование рандомизированное, плацебо контролируемое, слепое. В рамках данной работы в исследование включено 76 пациентов соответствующих критериям включения. Рандомизация согласно таблице случайных чисел в следующие группы: 1 – группа пациенты которым выполняется аорто-коронарное шунтирование



и интрамиокардиальное введение аутологичных мононуклеаров костного мозга. (0.2 мл. на 1 см², 1 мл. – 5 точек. всего 10 точек). 2 – группа пациенты которым выполняется аорто-коронарное шунтирование и интрамиокардиальное введение аутологичных мононуклеаров костного мозга. (0.2 мл. на 1 см², 1 мл. – 5 точек. всего 10 точек), а также внутривенное введение аутологичных мононуклеаров костного мозга по 5 мл. в 1 шунт, экспозиция 15 минут, при гипотермии 34°C. 3 – группа, пациентам выполняется аорто-коронарное шунтирование и интрамиокардиальное введение 0.9% раствора NaCl по 0.2 мл. в 10 точек. Интрамиокардиальное введение АМНКМ осуществляется в бассейне левой коронарной артерии на всем протяжении. Основная идея данной методики заключается в следующем: при наложении аорто-коронарного шунта происходит восстановление кровотока в дистальных частях коронарной артерии. При этом в случае протяженного и/или бифуркационного поражения проксимальные участки миокарда, кровоснабжаемые данной артерией, не заполняются ретроградно. За счет способности АМНКМ к неоангиогенезу, дополнительное введение данного вида клеточного материала, ведет к улучшению перфузии и метаболизма проксимальных сегментов.

Результаты:

Повторное обследование через 1 год после проведенного лечения.

1. Оценка безопасности. Нет достоверной разницы между группами по следующим критериям:

- Восстановление сердечного ритма по завершении основного этапа операции (дефибрилляция/ самостоятельное восстановление).
- Время искусственного кровообращения.
- Время аноксии.
- Объем кровопотери по дренажам в 1-е сутки.
- Объем отделяемого во вторые сутки.
- Тропонин I в 1, 2, 3 сутки послеоперационного периода.
- Длительность пребывания в реанимационном отделении
- Частота послеоперационных осложнений (гидроторакс, гидроперикард, нарушения ритма).

2. Проводится оценка ряда параметров для прогнозирования результатов лечения (влияние ряда параметров):

1. Возраст.
2. Пол.
3. Индекс массы тела.
4. Сахарный диабет.
5. Курение.
6. Семейный анамнез сердечно-сосудистых событий.
7. Длительность ИБС.
8. Уровень общего холестерина (+фракции).
9. Уровень лейкоцитоза и СРБ (исходно и скорость уровня снижения в послеоперационном периоде).
10. Уровень креатинина.



11. Наличие/ отсутствие экстракардиальной артериопатии.
12. Введение АККМ интрамиокардиально или внутрикoronарно.
13. Оценка костного мозга: количество ядродержащих клеток, CD34+, CD133+
3. Оценка эффективности

В ранее проведенных работах нашей научной группы было достоверно доказано улучшение перфузии и метаболизма миокарда по данным ПЭТ / ОФЭКТ в группах пациентов после имплантации АМНКМ. При ЭХО КГ в группах пациентов после имплантации АМНКМ отмечено уменьшение линейных и объемных показателей миокарда, в большей степени увеличение ФВ ЛЖ, устранение либо уменьшение степени выраженности диастолической дисфункции ЛЖ (параметры – E, A, E/A, DT, IVRT). Проводится оценка проходимости шунтов (ангиография). Отмечены следующие предварительные результаты: группа контроля/ группа с дополнительной имплантацией АМНКМ:

- общее количество шунтов – 62/27
- Общее кол-во функционирующих шунтов через 1 год – 45/22
- процентное соотношение – 72,6/81

Проводится оценка качества жизни согласно опросников SF-36, Сиэтлский опросник, Миннесотский опросник.

Зависимость и продолжительность положительного клинического эффекта от способа (интрамиокардиальное/ интракоронарное введение) и объема введенного клеточного материала будут произведены по завершении исследования.

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИД- ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНЫХ ТКАНЕЙ

КОМЛЕВ В.С.¹, СЕРГЕЕВА Н.С.², ФЕДотов А.Ю.¹, ТЕТЕРИНА А.Ю.¹,
ЕГОРОВ А.А.¹, ЗОБКОВ Ю.В.¹, СВИРИДОВА И.К.²,
КИРСАНОВА В.А.², АХМЕДОВА С.А.², ШАНСКИЙ Я.Д.²,
КУВШИНОВА Е.А.², БАРИНОВ С.М.¹

1 – ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова» РАН

2 – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России

Актуальность: Создание объемных матричных конструкций для тканевой инженерии костной ткани методами трехмерной (3D) печати является одним из перспективных направлений развития аддитивных технологий. Большое число работ направлено на разработку композиционных материалов (КМ), адаптированных к трехмерной печати.

Цель: В настоящей работе представлены результаты реализации предлагаемого принципа печати трехмерных структур на основе биополимеры/соединения фосфата кальция (ФК).



Материалы и методы: В качестве «чернил» использовали композиционный гидрогель на основе 2 % водного раствора альгината с гранулированными фосфатами кальция, их содержание в композите составляло до 30 масс. %. Были проведены физико-химические и биологические эксперименты *in vitro* и *in vivo* образцов трехмерных конструкторов.

Результаты: Применение способа 3D печати позволяет получать образцы сложной геометрии и заданной архитектоники. Установлены параметры и составы для реализации данной технологии, которые позволяют получать материалы с заданными физико-химическими характеристиками.

Выводы: Продемонстрирована возможность формирования трехмерных структур на основе биополимеров и ФК с заданной микроструктурой и морфологией кальцийфосфатных соединений. Разработанный подход может быть использован для изготовления персонализированных композиционных имплантатов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (Соглашение № 14.604.21.0132).

ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 И ПАКРИННЫХ ФАКТОРОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ

Кочкина А.В., Темнов А.А., Новоселов В.И.

ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Россия

В данной работе проводилось экспериментальное исследование по оценке эффективности влияния препаратов на основе пероксиредоксина 6 (Prx 6) и паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на заживление открытой раны вторичным натяжением.

Исследования были проведены на крысах-самцах линии Wistar. Моделирование раневого процесса кожи предусматривало иссечение полнослойного кожного лоскута до фасции в свободной от шерсти межлопаточной области наркозированного животного. Для предотвращения бактериального заражения в ранах был использован антибиотик гентамицин.

Подопытных животных разделили на 4 группы в зависимости от исследуемого раневого препарата: физиологический раствор; Prx 6 (1 мг/мл); целлюлозный гидрофильный гель, содержащий паракринные факторы МСК; гель, содержащий паракринные факторы МСК + Prx 6. Далее, во всех четырех группах, поверх препарата, накладывали вырезанную по форме раны коллагеновую пленку.

Для проведения морфологических исследований вывод животных из эксперимента осуществляли на 3, 7 и 14-е сутки методом декапитации.

В первые сутки оказывалось подавление окислительного стресса Prx 6, что оказывало критически важное влияние на дальнейшее восстановление раневого дефекта. Приме-



нение геля с кондиционированной средой МСК оказывало значительное положительное воздействие, усиливая регенерационные процессы. При использовании комбинации двух препаратов картина восстановления была наилучшей. Применение геля с паракринными факторами МСК в комплексе с Rgх 6 позволяет значительно увеличить скорость заживления ран. Таким образом, в работе показано действие мощного антиоксиданта и ростовых факторов на процессы регенерации в поврежденных кожных тканях.

СОХРАНЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО И РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ОБНОВЛЯЮЩИХСЯ ТКАНЕЙ ПРИ МУТАГЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Кузин С.М.¹, Стукалов С.В.²

1 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова

2 – ФГБНУ МГНЦ, Москва, Россия

Сохранение регенерационного потенциала в значительной степени зависит от двух процессов – элиминации клеток с генетическими нарушениями и количества пройденных клетками делений. При высокой мутагенной нагрузке погибает и требует замены большое количество мутантных клеток. От того, каким образом элиминируются поврежденные клетки, зависит возможность последующей регенерации и реабилитации больных, для лечения которых применяются мутагенные препараты.

Цель работы – изучение закономерностей элиминации клеток с генетическими нарушениями после сильного мутагенного воздействия тиофосфамидом.

Материалом для исследований служили клетки красного костного мозга джунгарских хомячков и лимфоциты периферической крови кроликов и обезьян (макак-резусов), которые забирали в разное время после введения тиофосфамида животным в дозах соответственно 1,5; 3,0 и 2,0 – 6,0 мг на кг массы тела. На цитогенетических препаратах определяли хромосомные aberrации и сестринские хроматидные обмены в клетках, прошедших разное количество делений.

Полученные данные показали, что элиминация клеток с генетическими нарушениями может происходить двумя способами. Клетки со значительными повреждениями блокируются в контрольных точках клеточного цикла и элиминируются апоптозом до или после первого митоза. Клетки с небольшими генетическими нарушениями (менее трех разрывов хромосом) могут неоднократно делиться, сохраняя жизнеспособность в течение многих дней и месяцев. Репарация индуцированных тиофосфамидом повреждений ДНК может продолжаться в них по меньшей мере в 3-х последовательных митотических циклах после воздействия. Элиминация таких клеток подчиняется закономерностям естественного отбора: преимущество в размножении и сохранении в пролиферативном пуле имеют клетки с меньшими повреждениями, а более поврежденные направляются в терминальную дифференцировку и погибают после выполнения своих функций. Такой способ удаления мутантных клеток позволяет поддерживать генетиче-



ский гомеостаз, сохраняя пролиферативный и регенерационный потенциал стволовых клеток, что особенно важно при значительных мутагенных воздействиях.

IN VIVO ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ АЛЛОГЕННЫХ ММСК В РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИМИДЖИНГА

КУЗНЕЦОВА Д.С.^{1,2}, ТИМАШЕВ П.С.³, РОДИМОВА С.А.²,
БАГРАТАШВИЛИ В.Н.³, ЗАГАЙНОВА Е.В.¹

1 – ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава РФ;

2 – ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия;

Дефекты костных тканей представляют актуальную медицинскую и социальную проблему во всем мире. Ключевой стратегией устранения костных дефектов является использование скаффолдов с подсаженными стволовыми клетками. Одними из наиболее перспективных по-прежнему остаются мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК). Существует много исследований, показывающих улучшение костной регенерации при участии ММСК, однако до сих пор остается открытым вопрос о том, насколько подсаженные ММСК вовлечены в восстановление собственной ткани. Таким образом, целью данной работы стало.

ММСК выделяли из костного мозга C57/Bl6 GFP(+) трансгенных флуоресцентных мышей. За три дня до имплантации клетки высевали на скаффолды, полученные методом поверхностного селективного лазерного спекания. С помощью стоматологического трепана у C57/Bl6 мышей формировали круглый дефект черепа и имплантировали на его место скаффолд с GFP(+)ММСК. Через 6 и 12 недель часть черепа со скаффолдом забирали и анализировали методами микроскопии и гистологии.

Показано, что спустя 6 недель после имплантации подсаженные GFP(+)ММСК остаются на скаффолдах и сохраняют свою активность, при этом собственные ММСК в месте дефекта не обнаруживаются. На гистологических срезах видно, что часть скаффолда начинает замещаться костной тканью. К 12 неделе большая часть скаффолда резорбируется, дефект заполняется восстановленной флуоресцирующей костной тканью. Кроме того, в месте скаффолда можно видеть большое количество флуоресцирующих сосудов, которые, предположительно, формируются из аллогенных GFP(+)ММСК.

Таким образом, показано, что аллогенные ММСК в течение длительного времени способны сохранять свою активность на скаффолдах, а так же непосредственно участвовать в образовании сосудов и, предположительно, костной ткани в месте дефекта.



КЛЕТочный БИОЧИП И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

КУЗНЕЦОВА С.А., ХВАСТУНОВА А.Н., ФЕДЯНИНА О.С.,
ЗАКИРОВА А.О., КАПРАНОВ Н.М., АТАУЛЛАХАНОВ Ф.И.

ФНКЦ ДГОИ им. Дм. Рогачева, Москва, Россия

Актуальность. Диагностика гемобластозов базируется на морфологическом исследовании лейкоцитов и определении их поверхностных антигенов. Однако проведение этих двух исследований на одних и тех же клетках невозможно.

Цель работы – разработка клеточного биочипа для сортировки лейкоцитов по дифференцировочным антигенам с целью последующего исследования их морфологии и цитохимической активности.

Материалы и методы. Клеточный биочип представляет собой прозрачную пластиковую подложку, на которой иммобилизованы антитела к поверхностным CD-антигенам лейкоцитов человека. После инкубации биочипа с суспензией лейкоцитов на нем остаются области, в каждой из которых связаны клетки, несущие на своей поверхности тот или иной CD-антиген. После специальной процедуры сушки клетки, связанные с биочипом, становятся морфологически идентичны клеткам в стандартных мазках и могут быть исследованы на морфологию или цитохимическую активность с использованием стандартных методов.

Результаты. В тех случаях, когда опухолевые клетки могут быть выделены морфологически, биочип позволяет определить иммунофенотип патологических клеток и исследовать их цитохимическую активность. Наши результаты, полученные более чем на 100 пациентах с острыми лейкозами и на 150 пациентах с хроническими В-зрелоклеточными опухолями с лейкоимизацией, показывают, что сочетание морфологии, иммунофенотипа и цитохимической активности опухолевых клеток позволяет поставить предварительный диагноз для данных категорий гемобластозов.

Выводы. Клеточный биочип применим для предварительной диагностики гемобластозов в тех случаях, когда опухолевые клетки могут быть выделены морфологически, как в специализированных медицинских центрах, так и в лабораториях с ограниченными диагностическими возможностями для постановки или уточнения предварительного диагноза.

ТЕЧЕНИЕ ОЖОГОВОГО ПРОЦЕССА ПОД ВЛИЯНИЕМ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕВОТИ- РОКСИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

КОЗЫРКО Е.В.¹, ГЛУШАКОВ Р.И.², ПРОШИН С.Н.³,
ТАПИЛЬСКАЯ Н.И.³

1 – ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им.
В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, ул. Академика Опарина, д.4;



2 – Военно-медицинская академия им.С.М.Кирова, Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, 6;
3 – Санкт-Петербургский государственный педиатрический меди-
цинский университет, Санкт-Петербург

Недавно изученные негеномные эффекты тиреоидных гормонов, заключающиеся в активации ангиогенеза, клеточной пролиферации и интерферон-опосредованном иммуномодулирующем эффекте, делают их универсальными регуляторами клеточной пролиферации, ангиогенеза и иммунитета.

Цель. Изучить влияние местного применения левотироксин-содержащего геля на продолжительность заживления химических ожогов кожи на модели животных.

Материалы и методы. Экспериментальное моделирование щелочного ожога средней степени тяжести выполнено на 22 кроликах весом 3,0–3,5 кг. Работа проведена в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 18.03.1986г., 15.06.2006г.) и одобрена локальным этическим комитетом. Щелочной ожог на передней поверхности бедра был вызван аппликацией фильтровальной бумаги в виде круга диаметром 50 мм, смоченного 2,5%-м раствором гидроксида натрия с экспозицией 60 секунд на кожу под барбиталовым наркозом, усиленным местной анестезией 0,5% прокаинам. Экспериментальные животные были рандомизированно разделены на две равные группы: опытную и контрольную. Лечение химических ожогов проводилось аппликациями мази «Левомеколь» и наложением марлевых повязок с 1% раствором хлоргексидина. Лабораторным животным опытной группы в течение 10 суток дополнительно выполнялись аппликации желатинового геля (основа), содержащего 200 мкг левотироксина (РУП «Белмедпрепараты») в 1 мл, всей поверхности раны, разовый объем геля составил 2 мл. Конечной точкой исследования явилось время наступления эпителизации.

Результаты. Заживление ожоговой поверхности сопровождалось постепенным уменьшением площади раневого дефекта: к 3 суткам на 8–9% в обеих группах, к 7 суткам на 35–45% и 30–40%, к 12 суткам на 60–80% и 50–70%, к 18 суткам – на 85–100% и 75–90%, среднее время наступления эпителизации составило $19 \pm 1,6$ и $24 \pm 1,8$ дней для опытной и контрольной групп соответственно ($p < 0,05$). Медиана наступления эпителизации составила 17 и 21 день для тех же групп соответственно.

Выводы. Местное лечение высокими дозами левотироксина за счет репаративного эффектов может быть эффективным в комплексном лечении ожогового процесса.



ВЫБОР МАТЕРИАЛОВ КОНСТРУКЦИЙ ИЗ БИОСОВ- МЕСТИМЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕКОНСТРУК- ТИВНОЙ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ ЖЕЛЧНЫХ ПРОТОКОВ

Клабуков И.Д., Люндуп А.В., Дюжева Т.Г., Чвалун С.Н.,
Григорьев Т.Е., Шепелев А.Д., Тенчурин Т.Х.

Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова, Москва, Россия

Частота повреждения желчных протоков сегодня остается на высоком уровне: при открытой операции составляет 0,1-0,8%, при лапароскопической холецистэктомии – от 0,3 до 3%, при резекции желудка – 0,14%. Современные методы хирургического лечения приводят к большому количеству осложнений, что делает актуальным создание технологий реконструктивной тканевой инженерии для замещения поврежденных участков желчных протоков (проект Минобрнауки РФ №14.604.21.0133 (RFMEFI60414X0133)).

Цель исследования: разработка метода создания универсальной трехмерной ткане-инженерной конструкции желчного протока из биосовместимых материалов с эпителиоцитами и стромальными клетками.

Материалы и методы: методом электроформования изготовлены различные варианты волокнистых структур (4 типа материалов) – полилактид и полигидроксиалканоаты (полигидроксибутират (ПОБ) и сополимер гидроксибутирата с гидроксивалератом (ПОБ/ПОВ)), в качестве добавки использованы пептиды шелка, подтверждена структура полимеров, показано отсутствие токсичных примесей. Исследовали рамановские спектры материалов. Проведены испытания материалов на проницаемость для водных растворов. Выбор оптимального материала проводили по двум критериям (хрупкости и прошиваемости нитью 6-0 PROLENE/Ethicon).

Результаты: Все исследованные образцы материалов в виде пленки были проницаемы для водных растворов. По критерию прошиваемости были выбраны материалы ПОБ/ПОВ и смесь полилактида с пептидами шелка.

Заключение: Методом электроформования из ПОБ/ПОВ и смеси полилактида с пептидами шелка получили оптимальные для хирургии образцы материалов для дальнейшего формирования каркасов и оценки их пригодности для создания трубчатых тканеинженерных конструкций желчного протока.



ТРЕХМЕРНЫЕ 3D ТКАНЕВЫЕ ЭКСПЛАНТЫ СПИНАЛЬНЫХ ГАНГЛИЙ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРВНОЙ ТКАНИ

Климович П.С., Семина Е.В., Сысоева В.Ю., Рубина К.А.,
Ткачук В.А.

Факультет фундаментальной медицины, ФГБОУ МГУ им. М.В. Ломо-
носова. Москва, Россия

Травмы нервов и нарушение периферической иннервации являются социально-значимой проблемой, приводящей к инвалидизации трудоспособного населения России. На сегодняшний день одним из современных подходов для изучения процессов регенерации является создание трёхмерных тканевых моделей, позволяющих на молекулярном уровне изучать процессы, происходящие в органах и тканях при их регенерации. Мы разработали трёхмерную модель эксплантной культуры спинальных ганглий (СГ) в Матригеле для изучения скорости роста аксонов и миграции нервных клеток. Метод может быть использован для скрининга терапевтических препаратов, поскольку с помощью данного подхода можно оценивать стимулирующее или ингибирующее влияние веществ, вводимых в Матригель. Выделение и дальнейшее культивирование СГ проводили у мышей, прогениторные клетки которых экспрессируют флуоресцирующий белок, что позволяет визуализировать миграцию глиальных клеток из эксплантов в Матригель. Ганглии изымали и помещали в каплю Матригеля, добавляли нейротрофные факторы: фактор роста нервов (NGF), нейротрофный фактор глиальных клеток (GDNF) и мозговой нейротрофический фактор (BDNF). Через 14 дней сравнивали миграцию клеток и рост аксонов при помощи иммунофлуоресцентного окрашивания и конфокальной микроскопии. Для окрашивания образцы инкубировали с первичными антителами к зрелым аксонам (нейрофиламенты NF200) и вторичными антителами, конъюгированными флуорохромом AlexaFluor 594, ядра докрашивали DAPI. Обнаружено, что достоверное увеличение в стимуляции роста аксонов оказывает GDNF (в 2 раза по сравнению с контролем). Достоверной разницы в стимуляции роста аксонов между NGF, BDNF и контролем не наблюдалось. Мы предположили, что регенерация аксонов может опосредоваться за счёт GDNF-зависимой активации глиальных клеток, которые выделяют факторы роста, стимулирующие скорость роста аксонов и регенерацию нервов. Работа выполнена за счёт гранта РНФ (проект №14-24-00086) с использованием оборудования, приобретённого за счёт средств Программы развития МГУ.



РЕГЕНЕРАЦИЯ СКЕЛЕТНОЙ И ГЛАДКОЙ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ АЛЛОГЕННЫМ БИОМАТЕРИАЛОМ

ЛЕБЕДЕВА А.И.

ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии МЗ
РФ», Уфа, Россия

При заживлении глубоких повреждений мышечных тканей происходит формирование рубца, которое приводит к нарушению функционирования органа. Аутомиопластика и клеточные технологии, генная терапия и т.д. являются трудоемкими травматичными методами и сопряжены с осложнениями. Альтернативой служит использование биодеградируемых трансплантатов. Целью исследования явилось определение морфологических аспектов регенерации скелетной мышечной ткани и миометрия рога матки экспериментальных животных после механического повреждения с использованием аллогенного биоматериала (АБМ). Материал и методы. В опытной группе (36 крыс) в области брюшка мышцы голени в средней трети наносили дефект 3–4 мм. В толщу между культями укладывали губчатый АБМ соответствующих размеров и фиксировали нитевидным сухожильным трансплантатом. В контрольной серии (n=36) в области икроножной мышцы наносили дефект длиной 3–4 мм. После чего в обоих случаях на кожу накладывали швы Vicryl 6–0. Малоберцовый нерв не повреждали. 25-и самкам кролика в роге матки производили разрез лучом CO₂-лазера. 10-и животным (контроль) дефект ушивали викрилом, 15-и кроликам (опыт) дефект заполняли АБМ объемно-волокнистой структуры. Использовали гистологические, гистохимические, иммуногистохимические и электронномикроскопические методы. В результате, при миопластике с использованием АБМ происходила его биодеградация с постепенным высвобождением коллагена, гиалуроновой кислоты, кератан- и дерматансульфата. Продукты резорбции стимулировали массивную инвазию CD68+ клеток с провоспалительной направленностью (TNF-α, IL1). В регенерате выявлялась низкая численность соединительнотканых клеток, экспрессирующих профиброгенные цитокины (vimentin, FGF-b1, TGF-b1), по сравнению с контрольной группой, что обуславливало полноценный фагоцитоз и ингибирование развития рубца. В итоге, дефекты замещались васкуляризированной рыхлой соединительной тканью, доля которой со временем снижалась и замещалась мышечной клетками тканевого ложа.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОДИОКСИДА ЦЕРИЯ НА РАНЕВУЮ РЕПАРАЦИЮ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ЛЕГОНЬКОВА О.А.¹, УШАКОВА Т.А.¹, САВЧЕНКОВА И.П.²,
БЕЛОВА М.С.¹

1 – ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава
России,



2 – ГНУ ВИЭВ им. Я.Р.Коваленко РАН

Актуальность. В настоящее время лечение ожогов и ран включает в себя большой арсенал раневых покрытий, в том числе, с использованием клеточных технологий и факторов роста. Однако проблема раневой репарации остается одной из актуальных в регенеративной медицине. Определенную перспективу в этом отношении представляют продукты нанотехнологии, в частности, нанодиоксид церия (НДЦ).

Цель работы. Исследование влияния нанодиоксида церия на раневую репарацию в модели и *in vitro*.

Материалы и методы. Исследовали витальность (%) клеточных культур эмбриональных фибробластов мыши (STO), мультипотентных мезенхимных стволовых клеток (ММСК) крупного рогатого скота, эпителиальных клеток печени крысы (BRL) в зависимости от степени разведения золя НДЦ (от 102 до 108). В экспериментальной модели ожога на крысах породы Vistar массой 350–400 г изучали влияние 1% НДЦ на раневую репарацию. Площадь раны измеряли планиметрическим методом.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что при 24-часовой инкубации изучаемых культур клеток в золе НДЦ в разведении 103 витальность максимальна и составляет около 89%. Концентрации, стимулирующие регенерационные процессы *in vitro*, составляют от 1:103 до 1:104.

Результаты мониторинга ожоговой раны в эксперименте продемонстрировали стимулирующий эффект 1% НДЦ на регенерацию, особенно значительный к 25 суткам и проявившийся в сравнительном по отношению к левометилу сокращении площади раны (в 1.5 раза) и увеличении краевой эпителизации (в 2,4 раза). В раневых биоптатах отмечены явления акантоза и базальной активности эпидермиса на фоне умеренной лимфо-макрофагальной инфильтрации. В целом, препарат перспективен для использования в клинической практике, поэтому исследования продолжаются.

ИНДУЦИРОВАННАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК И ВЛИЯНИЕ НА ЭТОТ ПРОЦЕСС КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖ- ДЕНИЯ

ЛУПАТОВ А.Ю*, САРЫГЛАР Р.Ю., КАРАЛКИН П.А*,
ПОЛТАВЦЕВА Р.А**, БЫСТРЫХ О.А**, ЯРЫГИН К.Н*,
СУХИХ Г.Т.**

* ИБМХ, Россия, Москва

** ФГБУ «ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России

Дендритные клетки (ДК) являются основной клеточной популяцией, способной поглощать, процессировать и представлять лимфоцитам антиген в контексте молекул главного комплекса гистосовместимости как первого, так и второго классов. Эта особенность делает возможным использование ДК в качестве клеточных терапевтических вак-



цин для лечения онкологических и хронических инфекционных заболеваний. Изменяя условия дифференцировки ДК *in vitro*, можно получать ДК, обладающие толерогенными свойствами, которые могут быть востребованы для лечения аутоиммунных заболеваний. Другие клеточные популяции, напрямую не связанные с функционированием иммунной системы, также могут обладать иммуномодулирующими свойствами, в том числе, реализуя свой иммунорегуляторный механизм путем воздействия на ДК. Эти особенности могут оказывать заметное влияние на результаты применения клеточных препаратов. Целью данной работы явилось выявление фенотипических и функциональных особенностей ДК, полученных *in vitro* при различных условиях культивирования, а также исследование влияния других клеточных популяций, включая стволовые клетки различного происхождения, на дифференцировку ДК в культуре.

Методами ИФА и проточной цитометрии было показано, что зрелые ДК активно секретируют ИЛ-12 и обладают способностью активировать пролиферацию алогенных лимфоцитов. Добавление ИЛ-10 на этапе дифференцировки и созревания приводило к появлению ДК, неспособных стимулировать пролиферацию. Сравнительный транскриптомный анализ выявил экспрессию ряда генов, которые опосредуют способность к негативной иммунорегуляции. Сокультивирование моноцитов с мезенхимальными стромальными клетками (МСК) и фибробластами, за исключением МСК из эндометрия, приводило к подавлению дифференцировки, но не созревания ДК. Напротив, опухолевые клетки подавляли созревание ДК. Способность нейральных прогениторных клеток (НПК) подавлять дифференцировку ДК зависела от условий получения и поддержания культур НПК. Данные особенности следует учитывать при разработке методов клеточной терапии. Поддержано РФ грант 14-25-00179.

КАТИОННЫЕ ПЕПТИДЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АГЕНТЫ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-НАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ ДИССЕМИНИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕЙ

ЛУШНИКОВА А.А., АНДРЕЕВ С.М., ПУРГИНА Д.Д.,
МОРОЗОВА Л.Ф., ПОНКРАТОВА Д.А., АБРАМОВ И.С.,
ЦЫГАНОВА И.В., БАЛБУЦКИЙ А.В., ХАИТОВ М.Р.

ФГБУ «РОНЦ им.Н.Н.Блохина» Минздрава России; ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

Актуальность. Терапия метастатических опухолей – одна из важнейших задач клинической онкологии, требующая создания новых эффективных и специфичных препаратов. Для этой цели перспективны катионные пептиды (КП) – малотоксичные, устойчивые, способные проникать через клеточные мембраны и взаимодействовать как с поверхностными, так и с внутриклеточными молекулами-мишенями, которые не гиперэкспрессируются в нормальных клетках. **Цель:** изучение противоопухолевой активности КП *in vitro*. Материалы и методы. Перевиваемые клеточные линии меланомы кожи (МК) чело-



века mH 275 и mIS 223; контроль – нормальные фибробласты (НФ) человека перевиваемой линии H1036 (РОНЦ). Токсичность 12-ти пептидов изучали с помощью МТТ-теста; структуру и экспрессию гена NCL, кодирующего нуклеолин/C23,- в ПЦР с последующим электрофорезом в ПААГе и в ОТ ПЦР; мутации генов BRAF и NRAS – в ПЦР с последующим секвенированием ампликонов; мутации гена TP 53 – с помощью секвенирования 5-10-го экзона, амплифицированных на микрочипе. Результаты. В обеих линиях МК выявлены мутации BRAF V600E (экзон 15) + полиморфные варианты (ПВ) гена NCL. Мутаций в гене TP53 не обнаружено. Уровни экспрессии NCL и TP53 в клетках МК до инкубации их с КП были выше в 8,5 и ниже в 2,8 раз, соответственно, по сравнению с НФ. Из 12-ти КП было отобрано 4 (все дендримеры), ингибирующих пролиферацию с активацией апоптоза в концентрациях 0,5 – 4 мкг/мл, без видимой токсичности в МТТ-тесте для НФ. КП с другой молекулярной структурой не снижали жизнеспособность клеток в культурах МК и НФ. Избирательный цитотоксический эффект, возможно, обусловлен взаимодействием КП с C23 и C23 – с p53, с последующим ингибированием C23- и p53-зависимых сигнальных путей, индукцией апоптоза и подавлением пролиферации клеток, гиперэкспрессирующих C23. Выводы. На клеточных линиях меланомы кожи выявлена избирательная цитотоксическая активность ряда катионных пептидов с дендримерной структурой. Для нормальных фибробластов кожи эти пептиды не токсичны. Исследуются механизмы противоопухолевой активности пептидов и возможные клеточные мишени.

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА ДЛЯ ТЕРАПИИ КОЖНЫХ ДЕФЕКТОВ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Лыков А.П.^{1,2}, Бондаренко Н.А.^{1,2}, Суrowцева М.А.^{1,2},
Повещенко О.В.^{1,2}, Ким И.И.^{1,2}, Повещенко А.Ф.^{1,2},
Покушалов Е.А.², Коненков В.И.¹

1 – НИИКЭЛ, г. Новосибирск, Россия;

2 – ФГБУ ННИИПК им. Е.Н. Мешалкина МЗ РФ, г. Новосибирск, Россия

Одним из грозных осложнений при сахарном диабете является синдром диабетической стопы, обусловленным нарушением ангиогенеза, утратой способности привлекать клетки в область кожного дефекта, недостаточностью ростовых факторов. Костномозговые мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (КМ-ММСК) используются в регенеративной медицине для терапии воспалительно-дегенеративных процессов, так как они проявляют высокую клиническую эффективность.

Целью исследования явилось изучение клинической эффективности аутологичного биомедицинского клеточного продукта в терапии ожога кожи на модели стрептозотоцинового сахарного диабета у мышей.

Объектом исследования были мыши-самцы C57Bl6 с массой 20–22 г. КМ-ММСК получали из клеток костного мозга, кондиционную среду от КМ-ММСК собирали от клеток 2–4 пассажа. Фибробласты получали из кусочков кожи, в работе использовали клетки 2–4



пассажа и кондиционную среду от них. Сахарный диабет инициировали внутрибрюшинным введением стрептозотоцина (SIGMA, США) в 0,1 М цитратном буфере, pH 4,5 C57Bl6 в дозе 60 мг/кг. Термический ожог кожи под местной анестезией дорсальной области, индуцировали прижиганием металлическим шпателем, предварительно нагретым над пламенем спиртовки.

Показано, статистически значимое уменьшение площади дефекта кожи после однократного введения в область ожога КМ-ММСК, как у интактных мышей-самцов C57Bl6, так у мышей-самцов C57Bl6 с экспериментальным сахарным диабетом по сравнению с контрольной группой и другими биомедицинскими клеточными продуктами.

Таким, образом, отмечено ускорение процессов эпителизации раневого дефекта кожи в норме и при экспериментальном сахарном диабете у грызунов при лечении биомедицинским клеточным продуктом.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ САНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

МАРТУСЕВИЧ А.А., МАРТУСЕВИЧ А.К., ПЕРЕТАГИН С.П.

ФГБУ ПФМИЦ Минздрава России, Нижний Новгород, России

Целью работы являлся анализ особенностей влияния ингаляций синглетного кислорода на состояние процессов липопероксидации и антиоксидантную активность крови и легких животного при комбинированной термической травме.

Эксперимент выполнен на 30 крысах-самцах линии Вистар (масса тела 200-250 г). Было сформировано 3 группы животных равной численности: интактная группа (n=10), включающая животных, которым не выполняли никаких манипуляций; и 2 экспериментальные группы (n=10 в каждой), животным из которых под наркозом была нанесена комбинированная термическая травма. Животным контрольной группы проводилось местное лечение ожоговой раны препаратом «Левомеколь». Со вторых суток эксперимента животные 3-й группы, помимо мазевоего препарата «Левомеколь» получали ингаляции на аппарате для синглетно-кислородной терапии Airnergy (Германия) по 10 минут в течение 10 дней.

В гомогенате легких и в плазме крови методом Fe²⁺-индуцированной биохемилюминесценции на аппарате БХЛ-06 определяли активность про- и антиоксидантных систем по интенсивности перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности (АОА). Уровень малонового диальдегида в плазме крови и эритроцитах оценивали по методу В.Г. Сидоркина и И.А. Чулошниковой (1993). Активность супероксиддисмутазы (СОД) эритроцитов изучали по методу Т.В. Сироты (1999). Полученные данные были обработаны в программном пакете Statistica 6.1.

Установлено, что в плазме крови и ткани легких крыс при моделировании комбинированной термической травмы наблюдаются выраженные явления окислительного стресса (активация липопероксидации, снижение антиоксидантных резервов, угнетение



активности супероксиддисмутазы). На этом фоне применение ингаляций синглетным кислородом обеспечивает снижение интенсивности окислительного стресса в плазме крови, приводя к нормализации окислительного метаболизма в ткани легких, непосредственно соприкасающихся с газовым потоком, содержащим активные формы кислорода, в том числе синглетный кислород.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ БИОРАДИКАЛОВ КАК СРЕДСТВА РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

МАРТУСЕВИЧ А.К., ПЕРЕТЯГИН С.П., СОЛОВЬЕВА А.Г.,
МАРТУСЕВИЧ А.А., ПЕРЕТЯГИН П.В.

ФГБУ ПФМИЦ Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Известно, что свободно-радикальные процессы являются компонентом физиологического метаболизма, однако формирование дисбаланса между отдельными пулами биорадикалов служит патогенетической основой широкого спектра заболеваний. Эти нарушения в настоящее время принято трактовать в рамках специфических синдромов – окислительного, нитрозативного и галогенизирующего стресса. Их выделение требует и направленной коррекции, которая может осуществляться посредством использования экзогенных активных форм кислорода (АФК) и монооксида азота (NO).

Нами на протяжении последних лет проводятся комплексные исследования возможностей применения экзогенных источников биорадикалов в коррекции локального статуса и системных нарушений, возникающих при термической травме. Предварительные изыскания позволили подтвердить наличие как окислительного, так и нитрозативного стресса при ожоговой болезни как при ее моделировании у лабораторных животных (крыс), так и в клинике (у пациентов с термической травмой). Это указывает на наличие «точек приложения» для действия АФК и NO.

Изучение саногенетических эффектов биорадикалов производили на собственной модели комбинированной термической травмы, включающей сочетание контактного термического ожога и термоингаляционного поражения. В качестве средств коррекции использовали ингаляции низких доз озона, синглетного кислорода и оксида азота, внутрибрюшинное введение озонированного физиологического раствора и естественного донора NO – динитрозильных комплексов железа, а также местное применение мазей, содержащих цитохромовые нитрозильные комплексы.

Установлено, что по параметрам окислительного и энергетического метаболизма крови, состоянию ферментных систем детоксикации и функциональному статусу кардиоваскулярной системы и микроциркуляторного русла применение указанных биорадикалов является целесообразным, что создает предпосылки для создания новых технологий для регенеративной медицины.



ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НОВЫХ ГЕЛЕВЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖОГОВОЙ РАНЕ

МАРТУСЕВИЧ А.К., ПЕРЕТЯГИН П.В., СИДОРОВА М.В.,
ПЕРЕТЯГИН С.П.

ФГБУ ПФМИЦ Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Цель работы: изучение состояния микроциркуляции при местном лечении ожоговых ран гелевыми композициями, содержащими ксимедон и ксимедона фитат.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на 40 крысах линии Вистар, разделенных на 4 группы: контрольную ($n=10$) и 3 основных (по $n=10$ в каждой; местное лечение – ксимедон, ксимедона фитат и трисамина фитат соответственно). Всем животным моделировали термическую травму (комбинация термоингаляционного поражения и контактного ожога по собственной методике). Состояние микроциркуляции в околораневой зоне изучали методом лазерной доплеровской флуометрии на аппарате «ЛАКК-М» по показателю микроциркуляции (ПМ). Уровень ПМ определяли до нанесения термической травмы, на первые сутки после ее моделирования и по выводу животных из эксперимента (на 10-е сутки).

Результаты. Установлено, что в период ожогового шока имеет место выраженное угнетение микроциркуляции, что проявляется в снижении значения ПМ в 3 раза относительно исходного состояния ($p<0,01$). По завершению курса местного лечения композициями (на 10-е сутки послеожогового периода) наблюдали нормализацию оцениваемого параметра, причем динамика ПМ зависела от действующего соединения. Так, при использовании ксимедона отмечали восстановление рассматриваемого показателя практически до уровня интактных животных ($p<0,01$ по сравнению с периодом шока; $p>0,05$ относительно здоровых животных). В то же время применение комплексов фитиновой кислоты с трисамином и ксимедоном обуславливало более выраженную и примерно равную по величине активацию микроциркуляции, причем в этих случаях регистрировали значимые различия по отношению как к исходному (интактному) состоянию, так и к уровню, полученному для крыс, местное лечение которых осуществляли с помощью только ксимедона ($p<0,05$).

Таким образом, композиции, содержащие комплексы фитиновой кислоты с ксимедоном и трисамином, способствуют более выраженному стимулирующему действию на интенсивность микроциркуляции в околораневой зоне, чем ксимедон.



БИОРАДИКАЛЬНЫЙ СТРЕСС: СУЩНОСТЬ, ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ И ПАТОГЕНЕТИ- ЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

МАРТУСЕВИЧ А.К.¹, КАРИМОВА Р.Г.²

1 – ФГБУ ФМИЦ Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

2 – ФГБОУ ВПО «КГАВМ им. Н.Э. Баумана», Казань, Россия

В последние годы много внимания уделяется нарушениям окислительного метаболизма крови и тканей, лежащим в основе или являющихся значимым компонентом патогенеза различной патологии, что обусловило выделение и широкое использование термина «окислительный стресс». В то же время показано, что изменение физиологического уровня свободно-радикальных процессов также может происходить за счет сдвигов концентраций активных форм азота (в первую очередь, пероксинитрита) либо галоген-содержащих ионов. Подобные состояния получили наименование нитрозативного и галогенизирующего стресса. С другой стороны, указанные реакции не протекают изолированно друг от друга, а активные формы кислорода, азота и галогенов способны взаимно инициироваться, что и создает фундаментальный базис для их интеграции в единый термин «биорадикальный стресс», понимаемый нами как результативное (приводящее к негативному изменению функционально-метболического статуса организма) нарушение физиологического уровня свободно-радикальных процессов, связанных с образованием активных форм кислорода, азота или галогенов.

Исходя из приведенного выше определения, диагностика наличия биорадикального стресса должна складываться из определения его отдельных компонентов:

- 1) интенсификации липопероксидации на фоне угнетения антиоксидантных резервов (компонент окислительного стресса);
- 2) повышения маркеров нитрозативного стресса (в частности, 3-нитротирозина);
- 3) нарастания активности миелопероксидазы и иных параметров, визуализирующих галогенизирующий стресс.

Присутствие хотя бы двух из указанных компонентов свидетельствует о наличии биорадикального стресса.

Подобная покомпонентная диагностика рассматриваемого состояния предопределяет и принципы его коррекции, которую логично осуществлять источниками биорадикалов.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВА

МАСГУТОВ Р.Ф.^{1,2}, МАСГУТОВА Г.А.¹, САЛАФУТДИНОВ И.И.¹,
РОГОЖИН А.А.¹, ГАЛЛЯМОВ А.Р.^{1,2}, ЖУРАВЛЕВА М.Н.¹,
РИЗВАНОВ А.А.¹

1 – ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

2 – ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», г. Казань

В работе исследовано влияние ксенотрансплантации мезенхимных стволовых клеток полученных из жировой ткани человека на процесс регенерации седалищного нерва крысы. Жировая ткань была получена путем липосакции в стерильных условиях, ферментизирована по стандартному протоколу и культивирована *In vitro*. Интраоперационно, параневрально в три точки (область аутонервной вставки длиной 10 мм, дистальнее и проксимальнее линий шва нерва) шприцом Гамильтона вводили по 1 мкл раствора содержащего в себе 1 млн клеток в составе 0,09% хлорида Na. В контрольной группе, аналогично опытной группе, вводили 3 мкл 0,09% NaCl. В обеих группах седалищный нерв покрывали слоем фибринового клея. Рану ушивали послойно.

Показано, что через 65 суток после операции количество нейронов спинального ганглия L5 в группе с введением клеток на 53,44% ($P < 0,05$) выше по сравнению с группой животных с аутонервной вставкой без введения клеток. Количество NF-m+нейронов в опытной группе на 23,97% ($P < 0,05$) превышает аналогичный показатель в контроле (аутонервная вставка без введения клеток). Количество клеток глии в спинальном ганглии в опытной группе на 38,19% ($P < 0,05$) выше по сравнению с контролем. Исследование продольных срезов седалищного нерва указывает на увеличение количества проросших через две линии шва аксонов в группе с введением клеток, по сравнению с группой контрольных животных.

Таким образом, мы можем заключить, что ксенотрансплантация мезенхимных стволовых клеток полученных из жировой ткани человека стимулирует регенерацию седалищного нерва крысы, а также поддерживает выживание нейронов и клеток глии спинального ганглия L5.



БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПТИМИЗАЦИИ КАЧЕСТВА ИМПЛАНТАТОВ ДЛЯ КОСТНОЙ ПЛАСТИКИ

МАТВЕЙЧУК И.В., РОЗАНОВ В.В., ЛИТВИНОВ Ю.Ю., АНДРЕЕВА
Т.М., ШУТЕЕВ С.А.

ФГБНУ ВИЛАР, ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В.Ломоносова, ФБГУ НИМЦ
«Базис» Минобрнауки РФ, Москва, Россия

Актуальность. Повышение эффективности реконструктивно-восстановительных операций с применением костных имплантатов является одной из главных задач современной биоимплантологии. Особую роль в её решении играет качество имплантатов – совокупность их структурно-функциональных свойств, определяющих особенности репаративного процесса. Применяемые в настоящее время технологии получения костных имплантатов нуждаются в совершенствовании, оптимизации. В этой связи актуальность создания и экспериментальная апробация инновационных технологий изготовления и комплексного анализа имплантатов для целей биоимплантологии не вызывает сомнений.

Цель исследования – создание современной технологии изготовления и инновационных методов стерилизации костных имплантатов. Материалом исследования служили костные фрагменты бедренных костей животных и человека, использованные для апробации авторских технологий механической и гидродинамической обработки, озонной стерилизации. Результаты исследований показали, что костная ткань, как материал, отличается хорошей обрабатываемостью, способностью приобретать необходимую форму при заданных размерах образцов, сохранять её при изменении композиционного состава и пористости костной ткани, достигать высокого качества образуемых после физико-механической обработки поверхностей в соответствии с требованиями биоимплантологии. Анализ пористости костной ткани, обусловленной наличием в её структуре системы внутрикостных пространств, свидетельствует о возможности использования для стерилизации газовой среды, в частности, озono-кислородной смеси. Микробиологические исследования костных образцов, подвергнутых озono-кислородной стерилизации, а также сочетанному озono-кислородному и радиационному воздействию, подтвердили перспективность разрабатываемой инновационной технологии стерилизации, возможность уменьшения радиационной дозы по сравнению с её предельно допустимым значением с целью сохранения остеоиндуктивных свойств имплантатов.



СОЗДАНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ НА ОСНОВЕ СИСТЕМЫ CRISPR/CAS9 ДЛЯ КОРРЕКЦИИ МУТАЦИИ *di* В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ КРЫС ЛИНИИ BRATTLEBORO

МАЛАНХАНОВА Т.Б., ЗАКИЯН С.М.

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

В настоящее время общепризнано, что индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) человека могут быть успешно использованы в регенеративной медицине. Исправление мутации в ИПСК и последующая трансплантация клеток с исправленным генотипом в поврежденные органы делает возможным лечение многих наследственных болезней. Система CRISPR/Cas9 – один из инструментов генной инженерии, который позволяет направленную и эффективную коррекцию мутаций в ИПСК. Однако перед применением ИПСК в клеточной терапии у человека требуются доклинические исследования на модельных животных. Крысы линии Brattleboro – уникальный объект для таких исследований. Эти крысы являются моделью несахарного гипоталамического диабета, вызванного аутомомно-рецессивной мутацией *di* во втором экзоне гена *Avr*. Целью данного исследования является создание системы для коррекции мутации в клетках крыс линии Brattleboro.

В исследовании были применены биоинформатические и генно-инженерные методы, а также методы работы с культурами клеток. Основными этапами работы явились биоинформатический анализ и выбор донорных последовательностей и целевых сайтов для действия системы CRISPR/Cas9, экспериментальная проверка эффективности и специфичности работы созданных систем.

Проанализировав последовательность гена *Avr* было подобрано 2 донорных олигонуклеотида длиной 90 нуклеотидов, а также 3 целевых сайта для системы CRISPR/Cas9. Затем были получены генетические конструкции, экспрессирующие элементы системы CRISPR/Cas9. Анализ с помощью эндонуклеазы I фага T7 и эндонуклеазы рестрикции *BcgI* показал, что все конструкции активны и специфично вносят двунитевые разрывы в целевые сайты. Также был проведен полногеномный биоинформатический анализ возможных нецелевых сайтов в геноме крысы, после чего были выбраны наиболее безопасные конструкции. В целом, была получена система для исправления мутации в клетках крыс линии Brattleboro, которая обладает наименьшей нецелевой активностью.



ПЕРСПЕКТИВЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК В ВИДЕ КОНСТРУКЦИЙ ИЗ КЛЕТОЧНЫХ ПЛАСТОВ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ

МАКАРЕВИЧ П.И., ДЕРГИЛЕВ К.В., ЦОКОЛАЕВА З.И.,
БОЛДЫРЕВА М.А., ПАРФЁНОВА Е.В.

Лаборатория ангиогенеза, Институт экспериментальной кардиологии,
ФГБУ РКНПК Минздрава РФ

Регенеративная медицина активно использует методы клеточной терапии для восстановления функции тканей, пластики органов и стимуляции их регенерации. При этом открытым остается вопрос трансляции, так как в клинических испытаниях не удавалось добиться выраженного улучшения по ключевым показателям. Одной из причин этого считается низкая выживаемость клеток при инъекционном введении, а для решения данной проблемы предложено использование минимальных конструкций – «клеточных пластов» (англ. cell sheets), которые представляют собой комплекс из белков внеклеточного матрикса и обладающих терапевтическим потенциалом клеток.

«Клеточные пласты» могут использоваться не только для стимуляции регенеративных процессов, но и трансплантироваться с целью пластики – например, при инфаркте миокарда или развитии аневризмы. Нами в течение последних лет активно разрабатывались способы получения «клеточных пластов» из мезенхимных стромальных клеток жировой ткани (МСК), примитивных клеток сердца (ПКС) и эндотелиоцитов. Получение таких конструкций с использованием обычного лабораторного пластика в течение 24-48 ч представляет собой удобный способ подготовки клеточного материала для трансплантации. На животных моделях ишемии конечности и инфаркта миокарда был показан терапевтический потенциал «клеточных пластов» из МСК и ПКС, которые сохранялись на ткани в течение 14 суток и вызвали восстановление кровотока, увеличение плотности сосудов и регенерацию подлежащей. При этом конструкторы подвергались васкуляризации, входящие в их состав клетки пролиферировали, а распространенность апоптотических клеток в составе конструктора не превышала 10%. При пересадке ПКС с помощью «клеточных пластов» наблюдались признаки кардиомиоцитарной дифференцировки и формирования «плюс»-ткани, которая может вносить вклад в стабилизацию состояния сердца и улучшение его функции. Таким образом, есть все основания предполагать, что данная технология потенциально способна вывести существующие методы регенеративной медицины на принципиально новый уровень.



ОПЫТ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

МАКАРОВ С.В., РОССИЕВ В.А.

Центр трансплантации костного мозга и клеточной терапии
ГБУЗ Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Середина,
Самарский медицинский университет «РЕАВИЗ»

Цель работы состояла в оценке эффективности и безопасности применения высокодозной иммуносупрессивной терапии с аутотрансплантацией стволовых крове-творных клеток (ВИСТ АТ) при аутоиммунных заболеваниях нервной системы: рассе-янном скле-розе (РС), миастении.

Материал и методы. В клиническое исследование включались пациенты обоего пола с признаками резистентности или низкой эффектив-ности предшествующей стандартной терапии: 49 больных РС и 2 больных с миасте-нией в возрасте от 18 до 54 лет. Меди-ана наблюдения после трансплантации- 42 мес. Оценка эффективности трансплантации осуществлялась на основе клинических дан-ных, лабораторных и инструментальных методов. Предтрансплантационное кондицио-нирование проводилась по протоколам: 1.ВЕАМ +антилимфоцитарный глобулин (АЛГ); 2. Флудара + мелфалан (алкеран) + АЛГ. Летальность, связанная с процедурой трансплантации не зарегистрирована. Результаты. Ответ на терапию в виде регресса отдельных клинических симптомов и\или стабилизации состояния после ВИСТ АТ отмечен у всех больных РС и миастенией. В точке наблюдения 24 месяца у больных РС после ВИСТ АТ выявлено значимое снижение частоты обострений заболевания с 2,11+ 1,03 до 0,39+ 0,55 и показателя шкалы EDSS с 5,9+0,15 до 5,38+0,19 ($p<0,01$). У больных миастенией отмечены признаки регресса бульбарного синдрома, увеличения силы мышц, у 1пациента появилась возможность самообслуживания. Общая пятилет-няя выживаемость после ВИСТ АТ при РС составила 95%; одна больная с миастенией умерла от сопутствующих осложнений т.к. терапия проводилась в критическом состоя-нии. Пятилетняя выживаемость без прогрессирования в группе больных РС- 45%, что соответствует также данным международного многоцентрового исследования (EBMT, 2010). У другого больного миастенией не отмечено признаков прогрессирования забо-левания в течении 6 лет. Выводы. Применение аутотрансплантации гемопоэтических стволовых клеток с иммуноаблативной терапией при АИЗ нервной системы безопасно и эффективно. Технология клеточной терапии может рассматриваться как альтернатива при резистентных к стандартному лечению формам РС и миастении.

ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТРЕССОВОГО НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ

МАКАРОВ А.В.^{1,2,3}, Арутюнян И.В.¹, Аполихина И.А.¹,
ТЕТЕРИНА Т.А.¹, Саидова А.С.¹, Адамян Л.В.¹



- 1 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России» (директор – академик РАН, Г.Т. Сухих)
- 2 – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (директор – профессор О.В. Макарова)
- 3 – ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (ректор – академик РАН, С.А. Лукьянов)

Актуальность. Проблема недержания мочи (НМ) у женщин приобретает в последние годы все большую актуальность, причем стрессовое НМ составляет 51-77%. Стрессовое НМ может быть связано с анатомическими нарушениями в области уретры (гипермобильность) или нарушениями функции сфинктера уретры, связанными с потерей эластичности и нарушениями смыкания (недостаточность сфинктера уретры). В настоящее время консервативные методы лечения стрессового НМ и фармакологические препараты малоэффективны, в то время как хирургические могут приводить к серьезным осложнениям.

Цель. Разработать суспензионную тканеинженерную конструкцию для лечения стрессового НМ.

Материалы и методы. Для эмпирического выбора оптимального носителя проводили подкожную трансплантацию синтетических биорезорбируемых полимерных носителей и объемобразующего средства Urodex. После моделирования стрессового НМ трансплантировали парауретрально тканеинженерные конструкции на основе мультипотентных стромальных клеток и объемобразующего средства Urodex, оценивали уродинамические показатели, проводили морфометрию парауретральной области, иммуногистохимическое исследование.

Результаты. Проведено исследование влияния структурных особенностей, состава, свойств и метода получения на свойства биорезорбируемых синтетических биологически активных микроносителей из полимеров гомологического ряда алифатических полиэфиров. Отработаны эффективные способы изолирования, экспансии, иммунофенотипической и функциональной характеристики МСК пупочного канатика и создан банк экспериментальных образцов культур клеток. Разработан метод получения инъекционных ТИК на основе биорезорбируемых синтетических микроносителей различной дисперсности и морфологии, рекомбинантного FGFb и МСК пупочного канатика, а также на основе объемобразующего средства Urodex.

Выводы. На основании полученных данных выбран оптимальный состав тканеинженерной конструкции для лечения стрессового недержания мочи.

Данная работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (Соглашение № 13-04-12031 офи_м от 02 сентября 2013 года) и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (Соглашение №14.120.14.540-МД от 03 февраля 2014 г.).



ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ММСК И ГСК ДЛЯ АКТИВАЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭПИТЕЛИЯ КИШЕЧНИКА

Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю., Ястребов А.П.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Уральский Государственный Медицинский Университет Минздрава России
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» г. Екатеринбург, Россия

В научной литературе накапливается материал, посвященный эффективности использования гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) с целью активации регенерации эпителия тощей кишки. Учитывая выраженный иммуносупрессивный эффект мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), трансплантация этих клеток совместно с аллогенными ГСК может, на наш взгляд, потенцировать действие ММСК на эпителий тощей кишки с минимальным риском возникновения иммунологического конфликта.

Эксперименты выполнены на 36 белых лабораторных мышах-самцах возраста 6-8 месяцев. Эксперименты по получению культуры ММСК и ГСК выполнены на 9 лабораторных животных мышах-самках возраста 3–4 месяца, массой 20 г, срок гестации 14 дней. Животным опытной группы внутривенно вводилась суспензия плацентарных ММСК и ГСК соответственно в дозе 6 млн кл/кг и 330 тыс. кл./кг; вторая группа крыс являлась контролем, животным вводили физиологический раствор – 0,2 мл внутривенно. Внутривенные введения осуществлялись через 1 час после кровопускания однократно. Оценка регенеративных процессов слизистой оболочки тощей кишки осуществлялось с помощью расчетов индекса пролиферации (ИП), апоптотического индекса (АИ), средней клеточности в одной крипте. Пролиферативная активность определялась путем подсчета иммунопозитивных ядер эпителиоцитов по белку Ki-67, верификация выраженности апоптоза осуществлялась с использованием метода AporTag® Peroxidase In Situ Oligo Ligation (ISOL).

Было установлено что в физиологических условиях на 5 сутки после сочетанной трансплантации ММСК и ГСК в слизистой оболочке тощей кишки происходит повышение пролиферативной активности эпителиоцитов крипт, однако этого недостаточно для существенного увеличения содержания клеток крипт. На 5 сутки после острой кровопотери обнаружено, что сочетанная трансплантация ММСК и ГСК снижает повышенный уровень апоптоза, повышает пролиферативную активность криптального эпителия, что приводит к восстановлению клеточности эпителиоцитов крипт до значений контроля. Таким образом, в физиологических условиях сочетанная трансплантация ММСК и ГСК приводит к повышению пролиферативной активности эпителиоцитов крипт, в условиях острой кровопотери – к восстановлению содержания криптального эпителия через повышение пролиферативной активности, а также через угнетение апоптоза эпителиоцитов крипт.



СИСТЕМА CRISPR/CAS9 – РЕВОЛЮЦИОННЫЙ ИНСТРУМЕНТ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГЕНОМИКИ, КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

МЕДВЕДЕВ С.П.^{1,2,3,4}, ЗАКИЯН С.М.^{1,2,3,4}

1 – ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. акад.

2 – ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

3 – ФГБУ Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина МЗ РФ

4 – Новосибирский государственный университет

Выяснение функций генов и их взаимодействий, является одной из наиболее актуальных проблем биологии и медицины. Для решения данных задач необходимо наличие эффективных и направленно работающих инструментов. В последние годы в мировой биологической науке наблюдается лавинообразное возрастание числа работ, посвященных методическому совершенствованию и различным вариантам применения системы модификации геномов CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/Cas9). Еще три года назад данный инструмент использовался исключительно для направленного нокаута либо модификации единичных генов. Однако сейчас систему CRISPR/Cas9 адаптировали и используют для нокаута и управления генной экспрессией в масштабах целых геномов. Это направление, называемое функциональной геномикой, дает крайне интересные данные о функционировании и взаимодействии множества генов при реализации сложных биологических процессов в норме и патологии. В частности, данный инструмент используют в таких областях, как онкогенетика, иммуногенетика и исследование ответа клеток на вирусную инфекцию. Высоки возможности применения CRISPR/Cas9 в регенеративной медицине. Потенциально, различные типы клеток с исправленным генотипом можно применять для терапии наследственных заболеваний, а также заместительной клеточной терапии вирусных инфекций, например, ВИЧ. В данном докладе речь пойдет об основных направлениях применения системы CRISPR/Cas9, а также опыте ее применения для создания клеточных моделей наследственных заболеваний человека.

ВЛИЯНИЕ НА КЛОНОГЕННУЮ И ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ РАБДОМИОСАРКОМЫ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА KLOTNO

МЕЛЕХИН В.В., КОРОТКОВ А.В., МАКЕЕВ О.Г.



ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург
ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург

В последнее время активно изучается противоопухолевое действие Klotho. В ряде исследований было продемонстрировано, что гиперэкспрессия гена подавляет пролиферацию и индуцирует апоптоз опухолевых, но не интактных нетрансформированных, клеток различных линий. Целью исследования явилось изучение влияния гиперэкспрессии гена Klotho, индуцированной плазмидным вектором, на клоногенную активность и темпы роста культуры клеток эмбриональной рабдомиосаркомы человека.

Материалы и методы исследования. Исследования были проведены на клетках линии человеческой эмбриональной рабдомиосаркомы, полученной из Института Цитологии РАН. В опытной группе клетки подвергали липосомальной трансфекции плазмидой с геном секретируемой формы Klotho (Addgene plasmid 17713). Результаты оценивали по клоногенной активности в каждой группе и построении кривой динамики роста.

Результаты. Клоногенная активность достоверно отличалась у клеток исследуемых групп: в контрольной группе она составила 13,8%, в опытной – 7,8%. Общее количество клеток на 4 сутки культивирования в группах практически не отличалось. На 8-е сутки общее количество клеток в опытной группе оказалось на 29,2% меньше, чем в контрольной. Кроме того, стоит отметить значительную разницу в соотношении количества прикрепленных клеток к неприкрепленным. Так, на 4 день в опытной группе прикрепленные клетки составляли 43,9% от общего количества, в контрольной группе – 81,3%. При следующем подсчете (на 8 сутки) в опытной группе прикрепленные клетки составили 78,6%, а в контрольной – 88,8% от их общего количества. Таким образом, в проведенных исследованиях было подтверждено существенное снижение количества клеток в культуре, подвергнутой трансфекции плазмидой с геном Klotho. Полученные клетки демонстрировали существенное снижение клоногенной активности. Это может быть связано с индукцией апоптоза и ингибированием пролиферативной активности в культуре клеток рабдомиосаркомы.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ МЕТОДОМ ВРЕМЯ-РАЗРЕ- ШЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

МЕЛЕШИНА А.В.^{1,2}, ДУДЕНКОВА В.В.^{1,2}, ШИРМАНОВА М.В.^{1,2},
БЫСТРОВА А.С.^{1,2}, ЗАГАЙНОВА Е.В.^{1,2}

1 – ГБОУ ВПО НижГМА, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Нижний Новгород, Россия,

2 – ФГАОУ ВО ННГУ им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия

Исследование дифференцировки стволовых клеток без применения экзогенных красителей – является актуальной задачей. Целью данной работы было исследование



метаболического статуса мезенхимных стволовых клеток (МСК) в процессе дифференцировки по изменению времен жизни свободной и связанной форм восстановленного никотинамиддинуклеотида (фосфата) (НАД(Ф)Н) и окислительно-восстановительного коэффициента (ФАД/НАД(Ф)Н) методами многофотонной флуоресцентной микроскопии и FLIM имиджинга. В данной работе были использованы МСК костного мозга человека. Дифференцировку МСК индуцировали добавлением адипогенной среды. Визуализацию клеток проводили перед индукцией дифференцировки, на 5, 12, 19 и 26 дни после индукции дифференцировки. Для многофотонной флуоресцентной микроскопии и FLIM имиджинга клеточных образцов использовали LSM710 (CarlZeiss) в сочетании с FLIM системой (Becker&HickelGmbH). Флуоресцентные и FLIM изображения НАД(Ф)Н и ФАД получали при возбуждении флуоресценции на длине волны 750 нм и 900 нм соответственно. Показано, что вклады длинного времени жизни флуоресценции, соответствующие вкладам связанной формы НАД(Ф)Н, увеличивались в адипоцитах ($32,52 \pm 3,24\%$) по сравнению с недифференцированными клетками ($25,4 \pm 2,1\%$). Кроме того, было установлено уменьшение окислительно-восстановительного коэффициента (ФАД/НАД(Ф)Н) с $0,46 \pm 0,16$ от. ед. до $0,33 \pm 0,19$ от. ед. в процессе адипогенной дифференцировки. Полученные результаты об изменении окислительно-восстановительного коэффициента и вкладов связанной формы НАД(Ф)Н в адипоцитах свидетельствуют о переключении метаболических путей с гликолиза на окислительное фосфорилирование в процессе дифференцировки.

ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ В МИРЕ (ОБЗОР)

Мельникова Е.В., Меркулов В.А.

ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, Москва, Россия

Показателем тенденций развития современной биофармацевтической отрасли в плане использования клеточных технологий является спектр и содержание проводимых клинических исследований (КИ) препаратов для клеточной терапии в мире. По состоянию на 15 июля 2015 г. в реестре клинических испытаний федеральных и частных фармацевтических компаний (Clinical Trials registry and database) содержались сведения о 1335 активных КИ препаратов для клеточной терапии. Анализ сведений, содержащихся в реестре показал, что в 44 % ($n=582$) случаев исследуемые препараты на основе клеток в качестве клеточного компонента включают мезенхимальные стромальные клетки (МСК) ($n=90$ – аутологичные, $n=492$ – аллогенные препараты). Лидерами по КИ препаратов для клеточной терапии являются США (53% КИ) и страны ЕС (24% КИ).

Основным направлением для клинических исследований препаратов клеточной терапии является онкология. Аллогенные препараты преимущественно используются в гематологии и онкологии, в то время как аутологичные – для лечения сердечно-сосудистых и мышечных нарушений. Из тканеспецифичных клеточных препаратов наибольшее количество КИ проводится с аутологичными хондроцитами и дермальными фибробластами.



В настоящее время в III фазе КИ находятся 10 тканеспецифичных клеточных препаратов: миоциты (2), эпителиальные клетки (2), хондроциты (4), клетки поджелудочной железы (2). Четыре тканеспецифичных препарата проходят уже постмаркетинговое наблюдение (IV фаза КИ): 2 препарата – фибробласты дермы для заживления ран (ReCell™, Arita Medical и Apligraf™, Organogenesis), а также клеточные препараты для лечения диабета 2 типа и пересадки роговицы.

В России на сегодняшний день официально не сообщается о проведении КИ каких-либо препаратов для клеточной терапии, что связано с отсутствием действующей законодательной базы для проведения таких исследований. Однако принятие закона «О биомедицинских клеточных продуктах» в скором будущем гарантирует развитие отечественной биофармацевтической отрасли в этом направлении.

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ДОЗ МСК КОСТНОГО МОЗГА НА ПРИЗНАКИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

МЕЩЕРИН С.С., ОНИЩЕНКО Н.А., ИЛЬИНСКИЙ И.М.,
АВРАМОВ П.В., СЕВАСТЬЯНОВ В.И.

ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

Актуальность Хроническая трансплантационная нефропатия сокращает сроки жизни трансплантата за счет воздействия специфических и неспецифических факторов.

Цель исследования Изучить влияние разных терапевтических доз МСК костного мозга (КМ) на клинко-морфологические проявления неспецифического повреждения трансплантированных почек в отдаленные сроки.

Материалы и методы 5 групп экспериментов на крысах Вистар (n = 90). В 3х группах смоделирована аутотрансплантация почки (контрлатеральную почку удаляли) путем выполнения ее хирургической децентрализации и индукции воспаления почечным аутоантигеном и адьювантом Фрейнда. Через 35 – 40 суток после операции в I и II в хвостовую вену однократно вводили МСК КМ: в I – $0,3 - 0,5 \times 10^6$ клеток; во II – $3,0 - 5,0 \times 10^6$ клеток; III – контроль (модель без МСК КМ); IV – интактный контроль; V – интактный контроль + МСК КМ, как в II. В течение 10 месяцев контролировали диурез, креатинин, мочевины, белок в крови и моче, экскрецию Na и морфологическое состояние почек при окраске срезов гематоксилином и эозином. Достоверность различий в сравниваемых группах определяли по критерию t-Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты В III с 4 – 5 мес. у 70% крыс диагностирована слабовыраженная протеинурия, гистологически в почку очаги клеточной инфильтрации и дистрофии канальцев. В I функция почки в норме; гистологически – редкие очаги клеточной инфильтрации вокруг клубочков. В II – б\х крови в норме, но с 3 мес. у всех крыс диагностирована выраженная протеинурия (в 3 – 3,5 раза выше, чем в III), олигурия; гистологически –



воспаление, скопление белка в просвете клубочков и канальцев. К 10 мес. – очаговый тубулоинтерстициальный склероз. В IV и V без патологических изменений в почке.

Выводы При трансплантации почки факторы ее неспецифического повреждения (децентрализация) определяют дозозависимые эффекты МСК КМ: малые дозы ослабляют признаки неспецифического повреждения почки, большие дозы – усиливают их.

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВРОЖДЕННЫХ ЛОЖНЫХ СУСТАВОВ БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ У ДЕТЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ.

Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Кожевников О.В.,
Ильина В.К., Иванов А.В.

ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова Минздрава РФ», Москва, Россия.

Актуальность. Лечение истинных врожденных ложных суставов, с помощью современной реконструктивной хирургии, не всегда эффективно (до 50% рецидивов). Более 30% – многократные оперативные вмешательства и ампутации конечностей на уровне пораженного сегмента. Поэтому, продолжается поиск методов анатомического и функционального восстановления костей с врожденным ложным суставом.

Цель исследования. Оценка эффективности клеточной терапии аутологичными соединительнотканными (стромальными) клетками костного мозга при оперативном лечении врожденного ложного сустава большеберцовых костей у детей.

Материалы и методы. Четыре пациента (дети 1,4-3,7 лет) с врожденным ложным суставом костей голени: два пациента ранее были неоднократно оперированы, два других – без оперативного вмешательства. Пациентам проводились: резекция ложного сустава, восстановление костно-мозгового канала, сопоставление концов костных фрагментов, стабильный остеосинтез в аппарате внешней фиксации. Из биоптата крыла подвздошной кости выделяли клеточную суспензию костного мозга из которой получали культивированные стромальные клетки для инъекций в область резекции ложного сустава. Оценка остеорепаляции в области резецированных концов костных фрагментов осуществлялась клинко-рентгенологическим методом.

Результаты и выводы. Применением клеточной терапии аутологичными стромальными клетками костного мозга обеспечило полноценное сращение проксимального и дистального костных фрагментов в области резекции ложного сустава у всех пациентов. Консолидация концов костных фрагментов проходила по типу первичного сращения, без образования выраженной периостальной костной мозоли. Сроки фиксации в аппарате составили от 5-ти до 7,5-ми мес. Клинически, отмечены признаки полной консолидации костных фрагментов. Рецидива ложного сустава в области резекции в отдаленном периоде не отмечено. Компенсация неравенства длины конечностей осуществлялась дистракционным остеосинтезом.

Выводы. Показано выраженное оптимизирующее действие аутологичных стромальных клеток костного мозга на репаративную костную регенерацию.



IN VIVO ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ГАЗООБМЕНА (HEMOLUNG) В ПЕДИАТРИИ

Мусин Е.А.¹, JEFFRIES R.G.², ОЛЖАЕВ Ф.С.¹, ИСАЕВА Р.Б.¹,
ЖУМАДИЛОВ Ж.Ш.¹, САЛИЕВ Т.М., FEDERSPIEL W.J.²

1 – «National Laboratory Astana», АО «Назарбаев Университет,
г.Астана, Республика Казахстан;

2 – Институт регенеративной медицины МакГоуэна, г. Питтсбург,
США

Актуальность: На современном этапе дыхательная недостаточность занимает лидирующие позиции в структуре причин неонатальной и детской смертности. На сегодняшний день на рынке существует ограниченное количество оборудования для специфического применения в педиатрии при тяжелой дыхательной недостаточности.

Цель: Экспериментальная оценка возможности применения системы Hemolung в педиатрической практике.

Материалы и методы: Использовалась экспериментальная группа из здоровых ягнят весом 22–33 кг без проведения седации. Дизайн эксперимента: вено-венозный способ подключения гемоконтра аппарата к сосудистому руслу животного (V. jugularis externa sinistra), скорость кровотока стремилась к 280,0 мл/мин, длительность эксперимента – 168 часов, контроль антикоагуляционной терапии согласно результатам АЧТВ (в 1,5 – 2,3 раза от исходных значений). Документировались наиболее значимые клинические данные и показатели работы устройства, такие как скорость кровотока, скорость удаления CO₂, скорость вращения помпы, уровень гемолиза. Выполнялся мониторинг клинического анализа крови с контролем показателей форменных элементов крови, коагулограммы, гематокрита, фибриногена.

Результаты: 5 экспериментов из 8 были проведены в полном объеме. Причины 3-х преждевременно завершившихся испытаний не имели непосредственного отношения к работе системы. Средняя скорость кровотока составила 290±10 мл/мин за исключением одного животного, у которого вынужденно скорость была увеличена до 480,0 мл/мин. Средняя скорость удаления CO₂ составила 59 ± 5 мл/мин, а сатурация кислорода на исходящем из картриджа сегменте контура во всех случаях равнялась 100%.

Выводы: Система Hemolung в педиатрической конфигурации имеет потенциал клинического применения в детской практике.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ БАЛАНСА В СИСТЕМЕ «КЛЕТКИ-СТРОМА» – КЛЮЧЕВОЙ ФАКТОР В РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ

Муслимов С.А., ЛЕБЕДЕВА А.И., Мусина Л.А., Соловьева Е.П.



ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»
Минздрава России, Уфа, Россия

Одним из основных направлений в регенеративной хирургии является пластика аллогенными биоматериалами, которая традиционно рассматривается как способ замещения тканевых дефектов. Проведенные нами исследования позволили открыть новый аспект использования аллогенных биоматериалов, направленный не на замещение дефектов, а на стимуляцию регенерации тканей. Это связано с разработкой диспергированного биоматериала Аллоплант™ (ДБА), который применяется инъекционно в виде суспензии. Морфологический и иммуногистохимический анализ результатов экспериментов с моделированием ряда патологий позволил выявить механизм влияния ДБА на характер межклеточных взаимодействий в системе «клетки-stroma». Как известно, главным фактором в развитии большинства дегенеративно-дистрофических заболеваний является поствоспалительный фиброз, что можно рассматривать как нарушение баланса в системе «клетки-stroma». Как показали наши исследования, первичным звеном, инициирующим фиброз, является повреждение резидентных макрофагов и уменьшение их популяции, что приводило к повышению экспрессии трансформирующего фактора роста (TGF- β 1), являющегося индуктором фиброза. После инъекции суспензии ДБА в очаге введения наблюдалась концентрация моноцитов, вышедших из кровеносного русла, которые затем дифференцировались в фенотипически зрелые тканевые макрофаги, обладающие высокой лизосомальной и фагоцитарной активностью. За счет ферментативной и фагоцитарной активности макрофагов происходил лизис не только частиц введенного биоматериала, но и коллагеновых волокон, образованных в результате фиброза. Иммуногистохимически выявлялась повышенная экспрессия фактора некроза опухоли (TNF α), который, как известно, конкурентно ингибирует активность TGF- β 1. Исчезновение фиброзных изменений в тканях приводило к регенерации кровеносных сосудов, нервных окончаний и других дифференцированных элементов.

ИЗУЧЕНИЕ ТУМОРОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ В КОНТРОЛЕ И ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ Г-ИЗЛУЧЕНИЯ

Москалева Е.Ю., Семочкина Ю.П., Родина А.В.,
Чукалова А.А., Посыпанова Г.А.

НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Потенциальная возможность злокачественной трансформации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) является одним из сдерживающих факторов активного внедрения клеточных технологий, основанных на их использовании. Данные о возможности трансформации МСК противоречивы. На МСК могут оказывать канцерогенное действие различные генотоксические факторы, в том числе ионизирующее излучение, источником которого помимо ряда диагностических исследований (рентгеноскопия, томография, радионуклидная диагностика), является лучевая терапия. При повреждении генома МСК



могут подвергаться злокачественной трансформации и инициировать развитие опухолей.

Целью работы явилось исследование возможности спонтанной и индуцированной действием ионизирующего излучения злокачественной трансформации МСК.

МСК выделяли из костного (МСК-КМ) и головного мозга (МСК-ГМ) мышей линии C57Black/6, культивировали в обычных условиях и характеризовали по набору антигенов с помощью проточной цитометрии, по скорости пролиферации при определении времени удвоения, по способности к дифференцировке, по радиочувствительности, оцениваемой по колониеобразованию. МСК на 29 пассаже облучали на установке ГУТ-2 (60Co) в дозах 0,1; 1,0 и 6,0 Гр. Уровень повреждений ДНК определяли по количеству фокусов γH2AX через 1 час после облучения. Для исследования туморогенности контрольные и облученные МСК после 10 пассажей вводили подкожно по 106 клеток сингенным мышам.

МСК-КМ и МСК-ГМ имели сходную морфологию и близкий профиль экспрессии молекул Sca-1, CD9 и CD140α, маркеры CD45 и CD11b отсутствовали. На 7 сутки после облучения в дозах 10-100 мГр обнаружена стимуляция пролиферации МСК-ГМ: их количество увеличивалось на 30-40% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем. По мере увеличения числа пассажей отмечено снижение времени удвоения контрольных и облученных в дозах до 1,0 Гр МСК и его увеличение для дозы 6,0 Гр. Через 3 месяца после подкожного введения сингенным мышам контрольных и облученных МСК-КМ и МСК-ГМ появления опухолей не обнаружено.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № НК 15-29-01234\15.

ПРИЖИЗНЕННАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МЕЗЕНХИ- МАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

НАМЕСТНИКОВА Д.Д.¹, ГУБСКИЙ И.Л.¹, ХОЛОДЕНКО И.В.²,
КУТАШЕВА А.А.¹, СУХИНИЧ К.К.^{2,3}, МЕЛЬНИКОВ П.А.²,
ВИТУШЕВ Е.Я.², ЯРЫГИН К.Н.², ГУБСКИЙ Л.В.¹

1 – ГБОУ РНИМУ им. Н.И. Пирогова, кафедра фундаментальной и клинической неврологии и нейрохирургии МБФ, Москва

2 – ФГБНУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия. Москва, ул.Погодинская, 10, kuarygin@yandex.ru. 3ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия.

Актуальность. Клеточная терапия с использованием мезенхимных стволовых клеток (МСК) показала положительный терапевтический эффект на животных моделях ишемии головного мозга, а также на людях в ходе первых клинических исследований. Одним из важных инструментов изучения механизма действия трансплантированных МСК при ишемии мозга служит их прижизненная визуализация в головном мозге животного-



реципиента. Перспективным в этом отношении методом является магнитно-резонансная томография (МРТ), позволяющая отслеживать пути миграции и зоны хоуминга трансплантированных МСК в реальном времени.

Цель. Целью исследования являлась оценка чувствительности идентификации МСК, меченных магнитными наночастицами, с помощью различных МРТ режимов *in vitro* и после стереотаксической трансплантации клеток в головной мозг крыс.

Материалы и методы. МСК были выделены из плаценты человека и помечены магнитными наночастицами оксида железа с флуоресцентной меткой. МСК в различном количестве (от 10 до 100 000 клеток) вводились в ткане-эквивалентный фантом и стереотаксически в головной мозг крыс линии Wistar ($n=45$), после чего выполнялось МР-исследование (ClinScan-Bruker BioSpin, 7Тл) в режимах T2-, T2*-ВИ, SWI, а также флуоресцентномикроскопическое исследование.

Результаты. МР-режим SWI является более чувствительным, чем T2-, T2*-ВИ, для выявления меченых МСК: с его помощью можно визуализировать от 10 меченых клеток. Выводы. Режим SWI может быть использован для прижизненной визуализации небольших групп трансплантированных клеток в головном мозге.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 14-04-31117).

ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДНЫХ СКАФФОЛДОВ И КЛЕТОК ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ХИРУРГИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

НАШЕКИНА Ю.А., ЮДИНЦЕВА Н.М., НИКОНОВ П.О.,
КАШИРОВА А.О., ИВАНОВА Е.А., СМАГИНА Л.В., ШЕВЦОВ М.А.,
АЛЕКСАНДРОВА С.А., ВОРОНКИНА И.В., БЛИНОВА М.И.

ФГБНУ ИНЦ РАН, Санкт-Петербург; Россия

Актуальность: при обширных повреждениях костной ткани для её восстановления необходимы конструкции, выполняющие регенеративные и опорные функции. Этим требованиям отвечают полилактидные скаффолды, заполненные стромальными клетками костного мозга. Нетоксичность, способность к биodeградации, а также термопластичность полилактида позволяют получать на его основе скаффолды с определённой архитектурой, имитирующей трёхмерное окружение клеток *in vivo*.

Цель: разработка тканеподобных структур на основе композиционных полилактидных скаффолдов с различной архитектурой и мезенхимальных клеток костного мозга (МСК), предназначенных для восстановления костей черепа.

Материалы и методы: композиционные полилактидные скаффолды с различной архитектурой получали методом фазового разделения из поли(L-лактида), глицерофосфата кальция и коллагенового геля. Исследовали функциональную активность культивируемых внутри скаффолдов клеток в зависимости от архитектуры скаффолда, концентрации геля и глицерофосфата кальция.



Результаты: в процессе выполнения работы были получены серии скаффолдов с размером пор в диапазоне 50-250 мкм. Остеоиндуктивные свойства скаффолда изменялись добавлением глицерофосфата кальция. Биосовместимость полилактида улучшали заполнением скаффолдов коллагеновым гелем с концентрацией 1, 2 и 3.5 мг/мл. Показано, что такая модификация улучшает функциональную активность МСК внутри скаффолдов. Имплантация полученных скаффолдов в кости черепа кролика наглядно демонстрирует эффективность регенеративных процессов костной ткани после трансплантации скаффолдов с клетками.

Выводы: полученные тканеинженерные конструкции могут быть использованы для реконструкции повреждённой костной ткани различной степени тяжести.

Работа выполнена на средства гранта РНФ №14-50-00068 и гранта РФФИ №13-04-12027.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АНГИОГЕНЕЗА И КЛЕТОК СТРОМЫ ВОРСИН ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ВНУТРИУТРОБНОЙ ЗАДЕРЖКЕ РАЗВИТИЯ ПЛОДА

НИЗЯЕВА Н.В.¹, СУХАЧЕВА Т.В.², СЕРОВ Р.А.², КУЛИКОВА Г.В.¹,
НАГОВИЦЫНА М.Н.¹, КАН Н.Е.¹, ТЮТЮННИК В.Л.¹,
ЩЁГОЛЕВ А.И.¹

1 – ФГБУ НЦАГиП им. В.И. Кулакова Минздрава России,

2 – ФГБНУ НЦССХ им. А.Н. Бакулева

Телоциты (Telocytes – Тц) (син. Interstitial Cajal like cells; Interstitial pacemaker cells) являются фибробластоподобными веретеновидными клетками с электрофизиологической (пейсмекерной) активностью. Впервые Тц были выявлены в стенке тонкой кишки, но впоследствии обнаружены в миометрии, фаллопиевых трубах, стенках кровеносных и лимфатических сосудов, а также в плаценте. Характерными ультраструктурными признаками Тц являются: вытянутая веретеновидная форма, длина от 40 до 100 мкм, поперечный размер 0,2–0,5 мкм; наличие 2–5 вытянутых цитоплазматических отростков, длиной до сотни мкм, часть из которых с вторичным и третичным ветвлением. К иммуногистохимическим особенностям Тц относится позитивное окрашивание CD117, CD34. Цель исследования заключалась в анализе морфологических, ультраструктурных и иммуногистохимических особенностей ангиогенеза и клеток стромы ворсин плаценты при внутриутробной задержке развития плода (ЗРП). Исследование выполнено на образцах плацент, полученных от 10 женщин после оперативных родов на сроке 26-39 недель гестации. Группу с ЗРП составили 5 пациенток, контрольную – 5 женщин с физиологическим течением беременности (ФТБ). Проведено морфологическое исследование микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, а также полутонких срезов, окрашенных по методу ШИК с докраской метиленовым синим. Ультратонкие срезы, контрастированные уранилацетатом и цитратом свинца, изучены под электронным трансмиссионным



микроскопом «Philips CM100». В результате исследования установлено, что при ФТБ Тц были с тонким ободком цитоплазмы и длинными отростками, со скудным количеством полирибосом и гранулярного эндоплазматического ретикулума, локализованного перинуклеарно или в расширенных участках (кавеолах). В стволовых, а также в промежуточных ворсинах определялись Тц веретеновидной, а также звёздчатой формы, образуя сеть посредством контактов клеток друг с другом и с клетками других типов, формируя своими отростками первичную выстилку сосудов. В веретеновидных клетках окрашивание CD117+ было более выраженным, чем в звёздчатых, экспрессия CD34 была незначительной в клетках обоих типов. При ЗРП клетки стромы всех типов ворсин утрачивали сходство с Тц, имели толстые короткие отростки, были резко деформированы, значительно увеличены в размере, содержали гиперхромные ядра, вакуолизированную, содержащую липиды, цитоплазму. При ЗРП экспрессия CD117 в клетках стромы ворсин была снижена. При ЗРП Тц приобретали сходство с фибробластами и миофибробластами, имели значительные морфологические и ультраструктурные отличия.

Закключение: Таким образом, указанные ультрамикроскопические особенности свидетельствуют о важной роли клеток стромы, включая Тц, в изменениях, ведущих к нарушению васкуляризации ворсин плаценты при ЗРП.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВАСКУЛЯРИЗАЦИИ ВОРСИН ПЛАЦЕНТЫ ПРИ РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Низяева Н.В.¹, Сухачева Т.В.², Серов Р.А.², Куликова Г.В.¹,
Наговицына М.Н.¹, Кан Н.Е.¹, Тютюнник В.Л.¹, Щёголев А.И.¹

1 – ФГБУ НЦАГИП им. В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия

2 – ФГБНУ НЦССХ им. А.Н. Бакулева

Телоциты (Telocytes – Тц) являются фибробластоподобными веретеновидными клетками с характерными ультраструктурными признаками (вытянутая веретеновидная форма, длина от 40 до 100 мкм, толщина 0,2–0,5 мкм; наличие 2–5 вытянутых цитоплазматических отростков). Тц позитивны к CD117, CD34. Преэклампсия (ПЭ) – это патологическое состояние, развивающееся во время беременности, характеризующееся повышением артериального давления свыше 140/90 мм. рт. ст. и протеинурией более 0,3 г в сутки, нередко сопровождающееся отёками. Считается, что основной причиной развития ранней ПЭ (РПЭ) (с клиническими проявлениями до 34 недель) является недостаточная инвазия трофобласта в спиральные артерии матки, приводящая к их неполной трансформации; поздняя ПЭ (ППЭ) (после 34 недель) ассоциирована преимущественно с экстрагенитальной патологией матери. Однако степень вовлеченности изменений сосудистого русла ворсинчатого дерева плаценты в патогенез ПЭ изучена недостаточно, поэтому целью исследования явилось изучение ультраструктурных особенностей клеток стромы и сосудов ворсин промежуточных плаценты при РПЭ и ППЭ. Исследование выполнено на образ-



цах плацент, полученных от 15 пациенток после оперативного родов на 25-39 неделях гестации. Пять беременных страдали ранней ПЭ, четыре – поздней ПЭ, группу контроля составили шесть пациенток с физиологическим течением беременности. Проведено морфологическое исследование микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, а также полутонких срезов, окрашенных по методу ШИК, с докраской метиленовым синим; ультратонкие срезы, контрастированные уранилацетатом и цитратом свинца, изучены под электронным микроскопом с трансмиссией «Philips CM100». В результате исследования установлено, что при физиологической беременности Тц промежуточных ворсин располагаются в геометрическом порядке, формируя своими отростками своеобразные ячейки, образующие выстилку первичных кровеносных сосудов. Тц выявлялись рядом с полноценно сформированными или формирующимися сосудами, окружая их своими отростками. При РПЭ Тц обнаруживали сходство с фибробластами, однако характеризовались хаотичным расположением в строме промежуточных ворсин, имели короткие толстые, с признаками дистрофии, отростки, не формирующие сеть с другими клетками. Выявлено наличие капиллярноподобных, заполненных клетками крови, структур, часто малого диаметра, без эндотелиальной выстилки, нередко содержащие сладжи эритроцитов и микротромбы. При ППЭ в одних и тех же ворсинах, наряду с полноценно сформированными сосудами, отмечались и капиллярноподобные структуры без эндотелия. Заключение: установленные особенности ультраструктуры строения ворсин плаценты свидетельствуют о ведущей роли клеток стромы, включая Тц, в нарушении васкуляризации ворсинчатого дерева плаценты при ранней и поздней преэклампсии.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ НСЛ-ИНДУЦИРОВАННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ТРАХЕИ У КРЫС

Новоселов В.И., Волкова А.Г., Мубаракшина Э.К.,
КАРАДУЛЕВА Е.В., ГОРДЕЕВА А.Е., ШАРАПОВ М.Г.,
ЧЕРНОГОЛОВ А.В., ТЕМНОВ А.А.,

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино
Департамент структурной биологии, Венского университета,
г. Вена, Австрия

Институт скорой помощи им. Склифосовского, г. Москва

Актуальность. Аспирация содержимым желудка может произойти как во время операции при проведении анестезии, так и при приеме ряда фармакологических средств, наркотиков или алкоголя. При этом НСЛ является одним из главных патогенетических факторов определяющих степень повреждения легочной ткани альвеол и развитию вентиляционно-перфузионному дисбаланса. Однако, остается до конца не ясным процесс повреждения эндотелия верхних дыхательных путей, механизмы и сроки регенерации при НСЛ-индуцированной аспирационной травме и факторы, которые могут ускорить этот процесс.



Целью нашего исследования было изучить возможность использования белков, синтезируемых стволовыми клетками, на процесс регенерации эпителия трахеи после ингаляции HCl.

Материалы и методы. В экспериментах использовали крыс линии «Вистар» весом 200 г. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями к гуманному обращению с животными. Химический ожог верхних дыхательных путей проводили выдерживанием животного в атмосфере насыщенных паров соляной кислоты.

В работе использовали кондиционированную культуральную среду, полученную через 3 суток после культивирования с мезенхимальными стволовыми клетками (МСК).

Через 30 мин после ингаляции HCl, когда pH слизи достигает физиологического значения, растворы кондиционированной среды МСК вводили в трахею в момент вдоха с помощью зонда с микро осветителем.

Результат. Показано, что на 3–7 день после аппликации белков, синтезируемых МСК, эпителий трахеи практически полностью восстанавливается. В процессе регенерации внутри подслизистой эпителия образуются замкнутые структуры, содержащие цилиарные клетки, аналогичные реснитчатым клеткам респираторного эпителия трахеи. Данные структуры мигрируют в сторону эпителия и встраиваются в пораженный слой. По-видимому, данное явление представляет особый тип регенерации респираторного эпителия трахеи после ингаляционной травмы трахеи с участием дуктальных стволовых клеток.

ЛЕЧЕНИЕ КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИ-МАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

ОРЕХОВ П.Ю., ЧУПИН А.В., КОНОПЛЯНИКОВ М.А.,
БАКЛАУШЕВ В.П., КАЛЬСИН В.А., АВЕРЬЯНОВ А.В.

ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва, Россия

Актуальность: недостаточная эффективность существующих методов лечения у неоперабельных больных с критической ишемией нижних конечностей (КИНК) порождает необходимость поиска новых технологий с целью повышения эффективности лечения.

Цель: оценить безопасность и эффективность терапии КИНК трансплантацией донорских мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Материалы и методы: трансплантация МСК (1 млн. на 1 кг массы тела) была проведена 10 больным с КИНК: выраженные боли покоя у всех больных, ограниченные трофические расстройства (класс 5 по Rutherford) у 7 больных, обширный некроз по передней поверхности голени – 1 больной (класс 6 по Rutherford). Средний возраст больных 61 год. Ранее 6 из 10 больных многократно оперированы на стороне пораженной конечности. Многоэтажное поражение артериального русла выявлено у всех больных. 7 больным трансплантация МСК в мышцы голени проведена в качестве самостоятельного метода лечения, у 3 – внутриартериально в сочетании с артериальной реконструкцией для улуч-



шения путей оттока.

Результаты: всеми больными отмечена удовлетворительная переносимость процедуры трансплантации клеток, серьезных непосредственных осложнений не было. За период наблюдения (от 3,5 до 16 месяцев) летальных исходов не отмечено. Конечность сохранена у 7 больных с полным или практически полным купированием болевого синдрома при среднем сроке наблюдения 9,5 месяцев (от 4 до 14 месяцев). Полное заживление трофических расстройств у 3 больных, значительное заживление – у 4. Осложнений в отдаленном периоде не было.

Выводы: Применение донорских МСК костного мозга человека безопасно и эффективно, позволяя сохранить конечность у 70% больных при среднем сроке наблюдения 9,5 мес. Требуется дальнейшее изучение проблемы, как для совершенствования методики, так и для более детальной оценки безопасности и эффективности данной терапии.

НОВЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ОБЛАДАЮЩИХ БОЛЬШЕЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ В КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ИХ КРИОКОН- СЕРВАЦИИ И ХРАНЕНИЯ

Орлова Е.В., Маевский Е. И.

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики
Российской академии наук (ИТЭБ РАН);

Современное состояние дел в области регенеративной медицины, а именно, при применении терапии стволовыми клетками, позволяет сделать однозначный вывод о том, что современный уровень развития технологий и методов терапии стволовыми клетками может становиться причиной множественных посттерапевтических осложнений различного генеза. Вследствие этого профильными исследовательскими группами во всем мире предпринимаются попытки по решению этого круга проблем.

Нами был получен новый способ стимуляции стволовых клеток для направленного и полноценного эффекта с последующим использованием в клеточной терапии. При использовании этого способа резко сокращается время необходимое для получения необходимого количества стволовых клеток без изменения их морфологии, при этом в принципе отсутствует потенциальная возможность трансформации стволовых клеток в раковые. В работе была использована первичная культура мезенхимальных стволовых клеток человека. Было показано увеличение количества клеток в 2,8 раза. При этом отсутствовали изменения в морфологии клеток и наблюдалось увеличение клеточного пула в G1, а также: увеличение мРНК гена: Ki67 – 4 раза; p27 – 2-кратная; bax – 1,5-кратное; bclX – 1,5-кратное; bcl2 – 2-кратная; fos – 2-кратная; bag – 1,7-кратное. Была показана de novo продукция мРНК гена MDR. Отсутствовала экспрессия генов циклинов: cyclinD, cyclinE, и p21(WAF), ErbB3, p16, YB1, myc, ras.



Для выращивания, хранения и криоконсервации стволовых клеток был получен ряд инновационных высокотехнологичных продуктов, представляющих собой наноразмерные гели, моделирующие межклеточный матрикс и которые могут быть использованы при: криоконсервации (как альтернатива ДМСО) без ущерба для биологического материала, транспортировки биологического материала без замораживания и без соблюдения температуры, более чем за 3 дня, и без изменения фазы клеточного цикла (культура клеток), выращивания культур клеток для формирования истинного монослоя.

Таким образом, индуцированные стволовые клетки и наноразмерные гели могут быть применены во многих отраслях биологии и медицины.

РАЗРАБОТКА КОЛЛАГЕНОВОГО ИМПЛАНТА ДЛЯ КЕРАТОПЛАСТИКИ

Осидак Е.О.¹, Сивогринов Д.Е.¹, Домогатский С.П.^{1,2},
Андреев Ю.В.^{3,4}

- 1 – ООО фирмы «Имтек», Москва;
- 2 – ФГБУ «РКНПК» МЗ РФ, Москва;
- 3 – ФГБУ ЦКБ РАН, Москва;
- 4 – ООО «Глазная клиника ЛЭК», Москва

Актуальность. Для лечения бельма и дистрофических изменений роговицы применяют операцию кератопластики, которая представляет собой замещение поврежденного участка роговицы роговой оболочкой взятой у донора. Однако клиническое использование аллогенного материала осложнено ввиду отсутствия необходимого количества донорских роговиц.

Цель. Оценка принципиальной возможности применения коллагенового материала для кератопластики.

Материалы и методы. Для приготовления имплантатов, в экспериментах использовали 2%-ный стерильный раствор очищенного свиного коллагена I типа (P C11-ND, ООО фирмы «Имтек»). In vivo исследование проводилось на 30 кроликах-самцах породы Шиншила. В ходе эксперимента осуществлялось удаление поверхностных слоев роговицы. В сформированное ложе имплантировали коллагеновую мембрану. Оценка результата проводилась методом биомикроскопии на щелевой лампе, а также гистологическими исследованиями. Для оценки возможности применения коллагеновой мембраны для сквозной кератопластики первичная культура эндотелия роговицы кролика была высеяна in vitro на поверхности коллагеновой мембраны.

Результаты. Через две недели после операции отмечалось прирастание коллагеновой мембраны к роговице в области контакта. Оптический срез роговицы был абсолютно прозрачен во всех секторах зоны операции. Сам имплантат был полностью прозрачен и покрыт эпителием. Эндотелиальные клетки, помещенные на поверхность коллагеновой мембраны in vitro, размножаются и формируют конфлюэнтный монослой с характерной для нормального эндотелия брусчатоподобной морфологией клеток.



Выводы. Продemonстрировано отсутствие какой-либо реакции глаза на имплантацию коллагеновой мембраны. Разработанный нами коллагеновый имплантат может с успехом применяться для послойной пересадки роговицы глаза. Полученные обнадеживающие результаты *in vitro* экспериментов демонстрируют перспективу использования разработанного имплантата для сквозной кератопластики в будущем.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ УСКОРЯЮТ ПРИЖИВЛЕНИЕ АЛЛОГЕННОГО КОЖНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

ОСПАНОВА М.Е., АБДРАХМАНОВА С.А., БУРКИТБАЕВ Ж.К.,
КАРИМОВ Г.М., БАЛТАБАЕВА Т.С., МАГЗУМОВА Р.З.,
ДАШЕВСКАЯ Н.В., АСКАРОВ М.Б.,

Научно-производственный центр трансфузиологии МЗ РК, Астана,
Казахстан

Актуальность. Концепция регенеративной медицины, в основе которой лежит применение стволовых клеток, открывает новое направление повышения эффективности лечения болезней, а также при трансплантации органов и тканей.

К настоящему времени получены факты, свидетельствующие о том, что костномозговые клетки могут служить индукторами иммунной толерантности.

Цель. Исследование репаративных процессов приживления аллогенного кожного лоскута при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) аллогенного костного мозга (КМ).

Материалы и методы. Опыты проводили на крысах Wistar массой 250 г. Животные были разделены на 2 группы: с трансплантацией аллогенного кожного лоскута и мезенхимальных стволовых клеток (МСК) (1 группа) и с трансплантацией кожного лоскута, но без применения клеточной трансплантации (контрольная группа). МСК применяли в виде суспензии после завершения операции по пересадке кожного лоскута.

Контроль эффективности МСК осуществляли визуально, планиметрическим и морфологическим методами.

Результаты. Установлено, что наиболее высокий темп приживления кожного лоскута был у животных 1 группы. Заживление наступало на 20–30 сутки. В контрольной группе приживление трансплантата отсутствовало. Следует отметить, что в 1 группе также имели место деструктивно-некротические изменения трансплантата у 40% животных, что в конечном итоге привели к отторжению трансплантата.

Заключение. В докладе более подробно будут продемонстрированы результаты воздействия МСК на репаративные процессы, протекающие в кожном трансплантате, а также обсуждены механизмы индукции иммунной толерантности и приживления аллогенного трансплантата.



СТРУКТУРНАЯ ДИНАМИКА АДГЕЗИВНЫХ КЛЕТОК СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Омельяненко Н.П., Ильина В.К., Ковалев А.В.,
Родионов С.А.

ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава РФ г. Москва, Россия

Актуальность. Несмотря на успешное использование культивированных собственно соединительнотканых клеток (ССТК) в лечении некоторых патологических состояний, особенно в ортопедии и травматологии, остаются не до конца выясненными механизмы их терапевтического действия на патологические процессы. Более глубокому пониманию этих механизмов и, следовательно, расширению области применения клеточной терапии будет способствовать изучение поведения ССТК при культивировании и влияние на них различных факторов, сопровождающих этот процесс.

Цель. Исследование закономерностей структурной динамики ССТК при культивировании и влияния на них различных сопровождающих факторов.

Материалы и методы. Исследовали ССТК из соединительной ткани костного мозга, дермы, хряща и других органов до и после выделения из нее и на этапах культивирования с помощью светооптической и электронной (СЭМ, ТЭМ) микроскопии.

Результаты. Показано, что при выделении ССТК из различных разновидностей соединительных тканей и последующем их культивировании клетки многократно меняли свою форму и взаиморасположение. Это происходило как при прикреплении, распластывании, делении, образовании сплошного монослоя, так и при пересевах: трипсинизации, центрифугировании, криоконсервации. В структурных элементах клеток происходили существенные изменения: появление складчатости цитоплазматической мембраны и утрата идентификационных признаков у части органелл во взвеси и их частичное восстановление при распластывании. Наиболее выраженные отличия культивированных клеток отмечены при переходе от нулевого к первому пассажу. Дальнейшие пересевы незначительно отличались один от другого, но их многократность также являлась фактором, влияющим на культивируемые клетки. После размораживания значительная часть клеток погибала из-за разрушения клеточных мембран и обводнения. Оставшаяся часть клеток прикреплялась и повторяла весь известный жизненный цикл. Выводы. Все обнаруженные изменения ССТК при культивировании и длительном хранении носили закономерный характер и проявляли себя во всех разновидностях соединительной ткани.



СТРУКТУРНАЯ ДИНАМИКА 3D-АГРЕГАЦИИ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ ХОНДРОЦИТОВ В СФЕРОИДЫ.

ОМЕЛЬЯНЕНКО Н.П., МИРОНОВ В.А., КУДАН Е.А., КНЯЗЕВА А.Д.,
ХЕСУАНИ Ю.Д., БУЛАНОВА Е.А., РОДИОНОВ С. А.

ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н.Приорова Минздрав РФ г. Москва, Россия
ЧУ Лаборатория «3D Биопринтинг Солюшенс» Москва, Россия

Актуальность. Одним из перспективных направлений клеточной терапии поврежденного суставного хряща является использование трехмерных агрегатов (сфероидов), состоящих из культивированных хондроцитов (ХЦ).

Цель исследования. Анализ структуры культивированных хондроцитов и их организации при формировании трехмерных клеточных агрегатов.

Материалы и методы. С помощью светооптической и электронной микроскопии были исследованы: ХЦ в составе суставного нативного хряща; взвесь ХЦ, выделенных из хряща а также культивированных ХЦ (третий пассаж); сфероиды, сформированные из культивированных ХЦ (третий пассаж) в агарозных молдах в течение 1 суток; сфероиды культивированные на сроках 2, 3, 4, 8, 15, 21, 30, 45 суток.

Результаты. Формирование сфероидов в агарозных молдах происходило из культивированных хондроцитов, имевших округлую форму, выбухания цитоплазматической мембраны (ЦПМ), округлое ядро с несколькими ядрышками, ГЭР. В цитоплазме встречались различного размера вакуоли и гранулярные структуры. В образовавшихся хондросферах клетки имели разнообразную форму от округлой до угловатой. Они плотно прилегали друг к другу, формируя своеобразные межклеточные контакты. Выбухания ЦПМ не встречались. Митозы не обнаруживались. В диапазоне 15–21 суток культивирования появлялся волокнистый межклеточный матрикс (ММ). Количество ММ увеличивалось к 30 и 45 суткам. ММ отделял группы клеток и отдельные клетки друг от друга, формируя волокнистый остов сфероида. Одновременно в цитоплазме ХЦ появлялось значительное количество жировых капель.

Выводы. Образовавшиеся хондросферы можно рассматривать как прототип тканевой структурной единицы способной существовать непродолжительное время в культуральных условиях.



РЕЗИДЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ СЕРДЦА: МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ В РЕГЕНЕРАЦИИ МИОКАРДА И ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

ПАРФЕНОВА Е.В., ДЕРГИЛЕВ К.В.

Лаборатория ангиогенеза, Институт экспериментальной кардиологии, ФГБУ РКНПК Минздрава РФ

Хроническая сердечная недостаточность, в подавляющем большинстве случаев постинфарктная, остается на протяжении пяти десятилетий одной из ведущих причин смертности в мире несмотря на прогресс в медикаментозном, эндоваскулярном и хирургическом лечении. Это обусловлено отсутствием эффективных средств, позволяющих восстановить необратимо утраченную часть миокарда. Исследования последних лет изменили существовавшую более 100 лет парадигму, рассматривающую сердце как терминально дифференцированный орган, неспособный к регенерации. Было показано, что обновление/регенерация миокарда происходит на протяжении всей жизни организма, и в этих процессах участвуют резидентные стволовые/прогениторные клетки сердца (СКС). Эти клетки располагаются в специальном тканевом микроокружении – клеточных нишах, регулирующих их функции. При повреждении миокарда СКС активируются в ответ на секретируемые поврежденными клетками цитокины и факторы роста, пролиферируют, мигрируют из ниши в зону повреждения, где дифференцируются в кардиомиоциты и клетки сосудов. Интенсивность этих процессов в организме взрослого млекопитающего невысокая, что не позволяет полностью восстановить клетки миокарда при обширных повреждениях. Однако, наличие в сердце даже ограниченного регенеративного резерва открывает перспективы создания технологий его использования с целью восстановления миокарда после повреждения.

В докладе рассматриваются возможные механизмы участия СКС в регенерации миокарда, методы получения СКС человека из операционных образцов миокарда, влияние возраста, пола, клинических характеристик на СКС, перспективы трансплантации СКС в виде минимальных тканеинженерных конструкций, состоящих из клеточных пластов (cell sheets).

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОПРОВОДИТЕЛЬНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ АКТИВИРОВАННЫМИ ЛИМФО- ЦИТАМИ БОЛЬНОЙ РАКОМ

ПАСОВА И.А., МАРИЗИНА Ю.В., АБАКУШИНА Е.В.,
ЕВДОКИМОВ Л.В, АГАБАБЯН Т.А., СИЛАНТЬЕВА Н.К., БЕРДОВ Б.А.

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России,
г. Обнинск.



Злокачественные новообразования являются хорошей мишенью для адоптивной клеточной иммунотерапии. Цель. Оценить эффективность сопроводительной иммунотерапии активированными лимфоцитами у больной раком.

Материалы и методы. Пациентка А. 1969 г.р. рак тела и хвоста поджелудочной железы 4 ст. T4NxM0 2A, аденокарцинома G1. Проведено 9 курсов химиотерапии (ХТ) гемцитабимом и иммунотерапия аутологичными активированными лимфоцитами. Далее проводилась иммунотерапия аллогенными активированными лимфоцитами и клеточным продуктом внутривенно паравerteбрально. Параллельно проведено 12 курсов ПХТ по схеме FOLFIRINO. Оценку распространенности опухолевого процесса и наличие метастатических очагов проводили с помощью спиральной компьютерной томографии (СКТ) и УЗИ.

Результаты. Первый курс химиоиммунотерапии аутологичными лимфоцитами не привел к уменьшению размеров первичной опухоли и метастазов. Однако наблюдалась нормализация показателей в общем анализе крови. После второго курса сопроводительной адоптивной иммунотерапии отмечалось стойкое снижение и исчезновение болевого синдрома, удовлетворительное самочувствие, хорошее настроение, желание лечиться. По результатам СКТ отмечалась положительная динамика. Размеры опухоли и метастатические очаги в печени несколько уменьшились в размерах, гиподенсная зона исчезла. В настоящее время пациентка жива.

Выводы. Сопроводительная иммунотерапия активированными лимфоцитами в комбинации с химиотерапией позволила добиться регресса опухоли, снизить побочные эффекты химиотерапии, уменьшить болевой синдром, увеличить продолжительность жизни пациентки.

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ MGFN В ПРОЦЕССАХ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕЙРОНОВ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ ИЛИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ИХ ГИБЕЛИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Павлова Г.В., Тесля П.Н., Куст Н.Н., ПАНТЕЛЕЕВ Д.Ю.,
САВЧЕНКО Е.А., РЕВИЩИН А.В.

ИБГ РАН

GDNF является одним из главных факторов выживания для дофаминэргических нейронов среднего мозга. GDNF обеспечивает рост аксонов и гипертрофию нейронов этого типа. На различных моделях болезни Паркинсона было показано, что рекомбинантный GDNF может предотвращать нейротоксически спровоцированную гибель дофаминэргических нейронов и способствует восстановлению их функциональной активности. Однако проведение II фазы клинических испытаний показало отсутствие обнаруженного эффекта у человека. Причина отсутствия эффекта может быть связана с использованием не той изоформы GDNF, которая необходима именно для стимуляции нейральной дифференцировки прогениторных клеток. На данный момент показано, что у человека ген GDNF



кодирует два варианта GDNF мРНК, pre-(α)pro-GDNF и укороченный pre-(β) pro-GDNF. Причем было обнаружено, что pre-(α)pro-GDNF, секретируется через аппарат Гольджи, а pre-(β) pro-GDNF, локализуется в основном в секреторных везикулах и движется по более быстрому секреторному пути. Вероятно, pre-(α)pro-GDNF необходим для выживания нейронов в норме, тогда как pre-(β) pro-GDNF необходим как SOS система регенерации при травматической гибели нейронов или при нейродегенеративных заболеваниях. Для исследования значимости pro области для быстрого транспорта и изменения индуктивных свойств фактора нами были сделаны несколько вариантов модифицированных GDNF (Kust et al 2015). Данные модифицированные GDNF были трансплантированы в клетки HEK293 и получены трансгенные линии клеток. Секреция факторов в среду была доказана Вестерн-блот анализом. Среда, кондиционированная культивированием клеток с модифицированными GDNF была добавлена в среду культивируемого эмбрионального спинального ганглия крысы и проанализировано образование нейральных отростков. Было обнаружено, что удаление pro области значительно повышает эффект GDNF, как нейрального индуктора. Аналогичный результат был получен при исследовании культуры разрушенного спинального ганглия и подсчете количества нейральных отростков от клеток.

Исследования были проведены также и *in vivo*. Была использована модель болезни Паркинсона, которая получали путем подкожной инъекции MPTP мышам линии C57Bl/6. Имплантация клеток, продуцирующих mGDNF в каудатум-путамен, сглаживала симптомы болезни Паркинсона в тестах на двигательную активность. Работа поддержана РНФ № 14-15-00942/

СРАВНЕНИЕ РЕГИОНАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК СЕРДЦА, КОЖИ И КОСТНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

ПАВЛОВА С.В.^{1,2,3}, СЕРГЕЕВИЧЕВ Д.С.¹, МАЛАХОВА А.А.^{1,2,3},
ЗАХАРОВА И.С.^{1,2,3}, ГРИГОРЬЕВА Е.В.^{1,2,3}, ПОКУШАЛОВ Е.А.¹,
ЗАКИЯН С.М.^{1,2,3,4}

1 – ФГБНУ ИЦИГ СО РАН»

2 – ФГБУ ННИИПК имени академика Е.Н. Мешалкина

3 – ФГБНУ ИХБФМ СО РАН

4 – ФГАОУВО НГУ

Клеточная терапия ишемических поражений миокарда является перспективным подходом в лечении кардиоваскулярных заболеваний. Однако до сих пор не найдено эффективных источников клеток для регенерации миокарда. Открытие c-kit позитивных кардиальных стволовых клеток (КСК) не привело к значительному прорыву в области клеточной терапии миокарда. Современная теория предполагает, что c-kit+ клетки, имеют проэпикардальное происхождение, экспрессируют мезенхимальные маркеры и способны дифференцироваться в эндотелиальном, муральном и фибробластном направлении. Что бы разобраться, какое место занимают клетки сердца в ряду региональных мезенхимальных стволовых клеток (МСК), мы провели сравнение c-kit+ клеток, выделен-



ных с из фрагментов ушка правого предсердия с помощью MACS сортиinga и методом кардиосфер, с МСК костного мозга и фибробластов кожи человека, полученных по стандартным протоколам. Методом проточной цитометрии, ИФ анализа и ОТ-ПЦР показано, что все клетки на ранних пассажах (2–4) имеют фенотип МСК клеток. КСК полученные методом кардиосфер дополнительно содержат эндотелиальные CD31 и CD34 позитивные клетки. Фибробласты кожи дополнительно являются CD10 позитивными (98%) и способны дифференцироваться в остеогенном и адипогенном направлении (в отличие от КСК). Таким образом, фибробласты кожи человека, полученные по стандартным протоколам, можно считать МСК кожи. В соответствии с иммунофенотипом, МСК-КМ, КСК и ФК-экспрессируют гены паракринных факторов HGF, VEGF, PDGFb, ANG1, ANG2, IGF1, TGFb, обладающих карди-протекторным и ангиогенным эффектом.

ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНОЙ ОРГАННОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ К ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА

ПАЮШИНА О.В., БЕРЕЗИНА А.А., БУТОРИНА Н.Н.,
ШЕВЕЛЕВА О.Н., ДОМАРАЦКАЯ Е.И.

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

Актуальность. Мезенхимные стромальные клетки (МСК) – ценный ресурс для регенеративной медицины, однако для эффективного и безопасного клинического применения этих клеток необходимо детальное изучение их поведения в организме реципиента. В частности, выбор оптимального источника МСК для трансплантации требует анализа потенциалов клеток из различных органов к дифференцировке *in vivo*.

Цель работы состояла в оценке способности МСК зрелого костного мозга, а также кости, селезенки и тимуса плодов дифференцироваться *in vivo* на различных моделях экспериментальной трансплантации.

Материалы и методы. Костный мозг половозрелых крыс, а также бедренную кость, селезенку и тимус 20-суточных плодов эктопически трансплантировали в почку крыс в виде тканевых фрагментов на 35 суток. Культуры МСК из этих органов трансплантировали в перитонеальную полость крыс в диффузионных камерах на 35 или 49 суток. Материал подвергали гистологическому анализу.

Результаты. Эктопическая трансплантация фрагментов костного мозга, содержащих МСК в их естественном микроокружении, приводила к образованию костной ткани и очагов гемопоэза. В трансплантированной кости плода также разрасталась костная ткань и формировалась кроветворная строма. Остеогенная дифференцировка МСК из этих источников наблюдалась и при их трансплантации в диффузионных камерах после предварительного культивирования *in vitro*. В некоторых камерах формировалась также хря-



щевая ткань. МСК селезенки и тимуса плодов, трансплантированные как в составе тканевых фрагментов, так и в диффузионных камерах, образовывали только соединительную ткань без признаков костной или хрящевой дифференцировки.

Выводы. МСК, содержащиеся в зрелом костном мозге и зародышевой кости, способны к остео- и хондрогенезу в организме реципиента, в том числе после культивирования *in vitro*. МСК селезенки и тимуса плодов такой способностью не обладают, что может указывать на бесперспективность их применения для регенерации скелетных тканей.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ НА СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖГОВОЙ РАНЕ

ПЕРЕТАГИН С.П., МАРТУСЕВИЧ А.К., КЛЕМЕНОВА И.А., ПЕРЕТАГИН П.В.

ФГБУ ФМИЦ Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Цель исследования: изучить особенности микроциркуляции в ожоговой ране при использовании водной среды.

Материал и методы. Моделировали поверхностный ожог у 20 крыс линии Вистар, который вызывали под общей анестезией контактным способом путём опускания участка тела животного (10% п.т.) в кипящую жидкость ($T=100^{\circ}\text{C}$; экспозиция – 3 сек). Затем животных случайным образом делили на 2 равные группы – опытную и контрольную. Крыс контрольной группы лечили по стандартной методике: местно ежедневно обрабатывали раны антисептическим раствором с нанесением мази «Левомеколь». Животных опытной группы после нанесения травмы фиксировали в специальной установке (индивидуальные изоляторы с физиологическим раствором, размещенные в водяном термостате). За ними проводилось наблюдение, осуществлялась 3-кратная смена водной среды. Со 2-х суток животные были переведены в клетки, и им осуществлялось лечение аналогично контрольной группе. До начала лечения, а также на 3 и 7 сутки после воздействия осуществляли регистрацию состояния микроциркуляции на аппарате ЛАКК-М.

Результаты. У животных опытной групп через трое суток показатель микроциркуляции был существенно выше, чем крыс контрольной группы ($p<0,05$). При этом активные факторы регуляции микроциркуляции (эндотелиальный, нейрогенный, миогенный) и пассивные (пульсовая волна) были в меньшей степени задействованы для поддержания оптимальной микроциркуляции, а уровень шунтирования кровотока у этих животных был достоверно меньшим по сравнению с аналогичным показателем у животных контрольных групп ($p<0,05$). Это свидетельствовало о более эффективном кровотоке в системе микроциркуляции. На 7-е сутки наблюдения показатель микроциркуляции превышал контрольные цифры, а уровень напряжения регуляторных систем для поддержания такой более эффективной микроциркуляции был меньшим.

Заключение. Проведенные исследования микроциркуляторного ответа продемонстрировали преимущества раннего лечения ожоговых ран во влажной среде.



ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПРОГНОЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ АНДРОГЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И МУЖСКОГО СЕКРЕТОРНОГО БЕСПЛОДИЯ СПОСОБАМИ КЛЕТОЧНОЙ, ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

ПЕТРОВА Е.С., ЮТКИНА В.О., СВЕТЛИЧНАЯ С.В., ТЯМБИНА А.С.,
ЛУБЯКО А.А.

ФГБУ НИЦКИР ФМБА России, г. Сочи, Россия

В последние годы проблема бездетных пар, всегда волновавшая мировое сообщество, в 80–85% случаях обусловленная андрогенной недостаточностью, где среди причин доминирует мужское секреторное бесплодие, достаточно легко устранимое современными методами клеточной, тканевой и органной восстановительной терапии.

На основании анализа гормональной активности тестикул и спермиограммы 118 пациентов в возрасте от 23 до 72 лет, которым было выполнено 152 трансплантации нативной взвеси ксеногенных клеток Лейдига и Сертоли в подкожную клетчатку живота по поводу устойчивой андрогенной недостаточности и мужского секреторного бесплодия, был разработан способ прогноза эффективности планируемого лечебного действия. Сравнительный анализ фактических и расчётных данных уровня общего и свободного тестостерона в плазме крови показал погрешность расчёта не более 5% при достоверности результата P в пределах 0,001–0,05. Таким образом, эффективность клеточных технологий может быть оценена заблаговременно ещё на этапе принятия решения о выборе способа лечения.

Алгоритм для расчёта динамики восстановления функции тестикулярного аппарата представлен полиномом шестой степени:

$$Y = 2 \cdot 10^{-6}x^6 - 4 \cdot 10^{-7}x^5 + 3 \cdot 10^{-5}x^4 - 1,1 \cdot 10^{-3}x^3 + 1,87 \cdot 10^{-2}x^2 - 2 \cdot 10^{-9}x + 4,73 \cdot 10^{-2}$$

где:

X – фактическое содержание тестостерона в плазме крови (нмоль/л);

Y – ожидаемое (расчётное) содержание тестостерона (нмоль/л).

Сделан вывод, что возможность использования предлагаемого алгоритма для расчёта изменения инкреторной активности других жизненноважных органов и тканей при использовании клеточных технологий должна быть подтверждена специальными исследованиями и может оказаться весьма перспективной.

НАРУШЕНИЕ РЕГЕНЕРАЦИИ И РАЗВИТИЕ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

ПЕЧЕРСКИЙ А.В.¹, ПЕЧЕРСКИЙ В.И., СМОЛЯНИНОВ А.Б.²,
ВИЛЬЯНИНОВ В.Н.³, АДЫЛОВ Ш.Ф.², ШМЕЛЁВ А.Ю.¹,
ПЕЧЕРСКАЯ О.В.¹, СЕМИГЛАЗОВ В.Ф.⁴



- 1 – Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;
- 2 – Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия;
- 3 – Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;
- 4 – НИИ онкологии им. профессора Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия.

Актуальность. Патогенез канцерогенеза является важнейшим предметом изучения фундаментальной науки.

Цель исследования. Изучение связи снижения пула плюрипотентных стволовых клеток и обусловленного этим нарушения регенерации с повышением риска развития онкологических заболеваний у людей старше 40 лет.

Материалы и методы. В первой части исследование проводилось у 11 больных раком почки, мочевого пузыря, предстательной железы III-IV стадии заболевания в возрасте от 54 до 76 лет. Во второй части исследование проводилось у 4-х пациентов 60–82 лет, которым в целях восстановления регенерации было проведено от 4 до 7 переливаний моноклеарной фракции периферической крови от молодых доноров 19–23 лет.

Результаты. В первой части исследования через 1 месяц после проведения химиотерапии или таргетной терапии у всех 11 онкологических больных развивалась лейкопения, сопровождавшаяся увеличением содержания FGFb в крови в среднем в 1,74 раза. У 4-х пациентов из них наблюдалось увеличение уровня human VEGF-A в среднем в 1,25 раза, у 3-х пациентов – увеличение уровня human EGF в среднем в 1,13 раза. Во второй части исследования у 4-х пациентов через 3–6 месяцев после завершения курса из 4–7 трансфузий моноклеарной фракции периферической крови содержание ГКП CD34+ периферической крови увеличилось в среднем в 3,25 до уровня молодых лиц, а уровень FGFb уменьшился в среднем в 1,78 раза. У 2-х пациентов из них уровень human VEGF-A уменьшился в среднем в 1,48 раза, у 3-х пациентов уровень human EGF уменьшился в среднем в 4,12 раза. В буккальном эпителии у всех 4-х пациентов экспрессия p53 снизилась в среднем в 6,02 раза, у 3-х из них – экспрессия Bcl-2 снизилась в среднем в 60,0 раз.

Закключение. Нарушение обновления тканей является основной причиной развития канцерогенеза у людей старше 40 лет. Избыточную стимуляцию митотической активности у них можно снизить до нормального уровня посредством восстановления численности пула плюрипотентных стволовых клеток при переливании моноклеарной фракции периферической крови от молодых доноров 18-23 лет одних с реципиентом групп крови и пола (патент РФ № 2350340).



ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПРОДУКЦИИ ТЕСТОСТЕРОНА У МУЖЧИН СТАРШЕ 40 ЛЕТ

ПЕЧЕРСКИЙ А.В.¹, ПЕЧЕРСКИЙ В.И., СМОЛЯНИНОВ А.Б.²,
ВИЛЬЯНИНОВ В.Н.³, АДЫЛОВ Ш.Ф.², СЕМИГЛАЗОВ В.Ф.⁴

1 – Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия.

2 – Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия.

3 – Центр крови и тканей Военно-медицинской академии им. С.М.
Кирова, Санкт-Петербург, Россия.

4 – НИИ онкологии им. профессора Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург,
Россия.

Актуальность. Влияние частичного возрастного андрогенного дефицита на развитие сахарного диабета 2 типа, атеросклероза, онкологических и других заболеваний обуславливает необходимость поиска оптимальных методов его коррекции.

Цель исследования – разработка методологии восстановления процесса регенерации и продукции тестостерона у мужчин старше 40 лет.

Материалы и методы. Пациенту 60 лет с частичным возрастным андрогенным дефицитом, получавшим андроген-заместительную терапию в дозе 1,6 мл 1% андрогеля в сутки, было проведено 7 переливаний моноклеарной фракции периферической крови, содержащей плюрипотентные стволовые клетки, от одного молодого донора 20-ти лет с одинаковыми с реципиентом полом и антигенными системами: AB0, Rh-фактор, фенотип Rh-фактора, Kell.

Результаты. Через три месяца после седьмого переливания моноклеарной фракции периферической крови содержание гемопоэтических клеток-предшественников (ГКП) CD34+ периферической крови увеличилось в 5 раз (с 1 до 5 клеток в 1 мкл). При этом СОЭ у наблюдаемого пациента после седьмой трансфузии уменьшилась с начальных 6 мм/час до 3 мм/час. После четвёртого переливания моноклеарной фракции периферической крови у пациента наблюдалось увеличение содержания общего тестостерона, что позволило уменьшив дозу 1% андрогеля с 1,6 мл в сутки до 0,5 мл в сутки. После уменьшения дозы 1% андрогеля содержание общего тестостерона снизилось до прежнего достаточного уровня. Значения общего PSA оставались нормальными. После седьмого переливания моноклеарной фракции периферической крови по причине нормализации продукции тестостерона восстановленным числом собственных клеток Лейдига андроген-заместительная терапия была отменена.

Заключение. Перспективным способом восстановления собственной продукции тестостерона и обратного развития связанных с этим изменений у мужчин старше 40 лет является трансфузия аллогенных плюрипотентных стволовых клеток в составе моноклеарной фракции периферической крови, заготовленной от молодых доноров (18-23 лет) с одинаковыми полом и группами крови с реципиентами (патент РФ № 2350340).



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ДЛЯ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РУБЦЕВАНИЯ ПОВРЕЖ- ДЁННЫХ ТКАНЕЙ

ПЕЧЕРСКИЙ А.В. ¹, ПЕЧЕРСКИЙ В.И., ШПИЛЕНА Е.С. ¹,
ГАЗИЕВ А.Х. ¹, СЕМИГЛАЗОВ В.Ф. ²

1 – Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

2 – НИИ онкологии им. профессора Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург,
Россия.

Актуальность. Рубец, как локальный очаг склероза, замещает раневой дефект или фокус некроза. К рубцеванию приводят различного вида травмы, включая операционные, а также целый ряд заболеваний. Рубцевание нередко завершается образованием стриктур и другими осложнениями. Предупреждение рубцевания является актуальной задачей медицины.

Цель. Разработка методологии стимулирования регенерации для уменьшения выраженности склерозирования повреждённых тканей.

Материалы и методы. Методология стимулирования регенерации для уменьшения интенсивности рубцевания повреждённых тканей показана на примере пациента со стриктурой уретры.

Результаты. Через 5 месяцев после эндоскопической уретротомии стриктуры бульбозного отдела уретры 3 мм и развившегося рецидива – стриктуры большей протяжённости – 5 мм была проведена повторная эндоскопическая уретротомия. Учитывая высокий риск рецидива заболевания в послеоперационном периоде пациенту была назначена комплексная терапия, направленная на стимулирование регенерации и предотвращение образования рубцовой ткани: препарат с протеолитической активностью (лонгидаза), стимулятор лейкопоза (метилурацил), препараты, содержащие компоненты межклеточного матрикса, улучшающие миграцию стволовых клеток (гиалуроновая кислота, глюкозамин), хемоаттрактанты, привлекающие антиген-представляющие клетки – макрофаги, местно (витапрост, стерильный масляный раствор вытяжки прополиса), поливитамины (компливит). Через 5 месяцев после последней операции по данным контрольной уретрографии у пациента определялось сохранение проходимости бульбозного отдела уретры.

Заключение. Комплексное стимулирование регенерации с учётом роли иммунной системы в формировании тканеспецифических рецепторов у стволовых клеток, определяющих направление их миграции, в сочетании с назначением ферментных препаратов, обладающих протеолитической активностью, может быть использовано для уменьшения выраженности склерозирования повреждённых участков тканей.



ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В КОРРЕКЦИИ РУБЦА МИОМЕТРИЯ

ОНОПРИЕНКО Н.В., ПЕКАРЕВ О.Г., ПЕКАРЕВА Е.О.,
МАЙБОРОДИН И.В.

Центр новых медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Определяли возможность наступления беременности и родов, а также методами люминесцентной микроскопии изучали изменения тканей после использования аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костномозгового происхождения (АММСККП) с трансфицированным геном GFP при моделировании рубцового сужения полости матки у крыс.

В асептических условиях медиальную часть каждого рога матки лигировали кетгутом. По 100 мкл суспензии АММСККП (105 клеток) вводили в область сформированного рубца через 2 месяца после перевязки. Сразу по истечении 3 недель после удаления лигатур с рогов матки подсаживали самцов.

Было обнаружено, что после инъекции в рубец матки АММСККП в нем возрастает число сосудов, образованных de novo с участием введенных клеток. Из АММСККП были построены целиком сосудистые стенки или их отдельные элементы. Количество сосудов со светящимися стенками было максимально к 3 неделе после введения АММСККП. Такие сосуды были расположены в рубце, окружающей клетчатке и в тканях матки.

После применения АММСККП животные начали рожать на 2 эстральных цикла раньше, процент родивших крыс в этой группе был выше, у них было больше как общее количество потомства, так и максимальное число крысят. Летальность животных после применения АММСККП, наоборот, была меньше. Возможно, что в результате использования АММСККП и более быстрой регенерации структуры маточных рогов восстанавливается проходимость обеих структур, с 2 сторон. Вследствие этого беременность протекает во всех рогах матки и численность новорожденных больше.

Также нельзя исключить вероятность того, что из-за воздействия инъекционных АММСККП на репарационные процессы площадь рубца уменьшается и, соответственно, места для имплантации эмбрионов в каждом роге матки становится больше и потомство рождается более многочисленным.

Таким образом, после введения АММСККП имеются несомненные признаки реорганизации рубца матки крыс.



МОДУЛЯЦИЯ КВЕРЦЕТИНОМ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ГЕПАТОЦИТАРНОМ НАПРАВЛЕНИИ

Пинчук С.В., Василевич И.Б., Квачева З.Б.,
Волотовский И.Д.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь

Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани (МСК ЖТ) активно пролиферируют в культуре и могут дифференцироваться в гепатоцитарном направлении, что позволяет рассматривать их в качестве ресурса для создания трансплантатов при терапии заболеваний печени. В настоящее время для лечения гепатопатий широко применяются препараты на основе полифенолов – соединений, обладающих выраженными антиоксидантными и гепатопротекторными свойствами. Вместе с тем влияние полифенолов на функционирование стволовых клеток остается малоизученным. Целью работы являлось исследование влияния природного флавоноида кверцетина на функциональное состояние МСК ЖТ в процессе их дифференцировки в гепатоцитарном направлении. Работа проведена на МСК ЖТ человека. Дифференцировку МСК индуцировали культивированием клеток в полной ростовой среде в течение 24 суток в присутствии 10 нг/мл FGF4 и 20 нг/мл HGF 20 нг/мл HGF, 10 нг/мл онкостатина М и 1 мкМ дексаметазона. Кверцетин добавляли в дифференцировочные среды при каждом ее обновлении. Концентрацию мочевины в среде роста определяли диацетилмонооксидным методом, содержание в клетках цитокератина 19 и α -фетопротейна оценивали методом проточной цитофлуориметрии, монооксигеназную активность – по скорости о-деалкилирования 7-этоксирезорурфина.

Установлено, что культивирование МСК ЖТ человека в присутствии факторов дифференцировки приводит к коммитированию клеток в гепатоцитарном направлении, проявляющемуся в увеличении секреции клетками мочевины, синтеза белков цитокератина 19 и α -фетопротейна, активности монооксигеназной системы. Наличие в дифференцировочной среде кверцетина в концентрации 1 или 10 мкМ усиливает проявление выше перечисленных признаков гепатоподобной трансформации МСК. Эффект наиболее выражен при использовании кверцетина в концентрации 1 мкМ. Полученные результаты свидетельствуют о возможности увеличения кверцетином эффективности дифференцировки МСК ЖТ в гепатоцитарном направлении и указывают на то, что данное свойство полифенола может являться одним из механизмов его гепатопротекторного действия при терапии гепатопатий.



ВОЗМОЖНО ЛИ ВОССТАНОВЛЕНИЕ СУСТАВНОГО ХРЯЩА? 20 ЛЕТ ДИСКУССИЙ И ОПЫТА

Пономарёв И.В.

Исследовательский центр по медицинской технике и биотехнологии, Бад Лангензальца, Германия

Методы тканевой инженерии хрящевой ткани представляют собой одно из наиболее разработанных и перспективных направлений в восстановлении повреждений суставных поверхностей, возникающих вследствие травмы или перегрузки сустава. Вместе с тем, имеющиеся на сегодняшний день в распоряжении врача травматолога-ортопеда технологии регенеративной медицины не могут обеспечить гисто- и органотипическую регенерацию опорного суставного хряща.

Нами был разработан оригинальный способ изготовления тканеинженерных хондротрансплантатов основанный на применении механической стимуляции клеточных агрегатов созданных без использования искусственных матриц-носителей. Для оценки возможности применения данного метода в клинической практике было проведено экспериментальное исследование, где в качестве модели были использованы зрелые (4-5 лет) овцы породы «меринос». Дизайн эксперимента выглядел следующим образом: были созданы три группы конструкторов отличавшихся по срокам культивирования в трёхмерном состоянии – 14 дней, 28 дней и 42 дня. Дефект хряща размером 8 мм в диаметре, создавался искусственно на медиальном мыщелке бедренной кости при артротомии коленного сустава. Место дефекта маркировалось с помощью штанца и этим же штанцем вырезался хондротрансплантат из подготовленного тканеинженерного конструктора. Фиксация трансплантата в месте дефекта осуществлялась с помощью минимального количества фибринового клея наносимого по центру дефекта. Эвтаназия животных была проведена через 6 и 12 месяцев после имплантации. В эксперименте было задействовано 36 животных: 3 группы культивирования по 5 овец, три «нулевых» дефекта для каждого срока эвтаназии.

При проведении исследования были использованы следующие аналитические методы: макроскопическая оценка трансплантатов, гистохимический и иммуногистохимический, а также количественный биохимический анализы основных компонентов матрикса в тканеинженерных конструкторах и в нативном интактном хряще.

В результате проведённых исследований было выявлено полнослойное восстановление суставной поверхности в группе со сроком культивирования 42 дня. Гистологически и иммуногистохимически показано высокое сходство хрящевых регенератов с нативной тканью. Биохимический анализ выявил отсутствие различий между показателями коллагена в нативном хряще и во всех группах культивированных хондротрансплантатов уже спустя 6 месяцев после имплантации. Показатели глюкозаминогликанов демонстрируют выраженную тенденцию к возрастанию и практически достигают уровня таковых в нативной ткани через 12 месяцев в условиях *in vivo*.

Учитывая полноценное восстановление дефектов хряща у овец через 12 месяцев, можно предположить, что применение данной технологии в клинической практике будет также высокоэффективным в решении проблемы регенерации травматических повреждений суставных поверхностей.



МУТАЦИИ ГЕНОВ BRAF, NRAS, KIT В МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ МЕЛАНОМЕ ГЕНИТАЛИЙ И ВОЗМОЖНОСТЬ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ

ПОНКРАТОВА Д.А., ЛУШНИКОВА А.А., ЦЫГАНОВА И.В.,
СЕНДЕРОВИЧ А.И., БАЛБУЦКИЙ А.В., ВИХРОВА А.С.,
ПЕТЕНКО Н.Н., ЧЕРЕМУШКИН Е.А., КОРЖЕВСКАЯ Е.В.,
МИХАЙЛОВА И.Н.

ФГБУ «РОНЦ им.Н.Н.Блохина» Минздрава России

Актуальность. Меланомы кожи и слизистых оболочек женских гениталий – редкие и очень агрессивные опухоли с плохим прогнозом, различающиеся по клиническим и гистопатологическим характеристикам, по терапевтическим подходам. Анализ мутаций онкогенов в генитальных меланомах позволяет уточнить генетические изменения, обосновать таргетную терапию, улучшить выживаемость. Цель. Изучение спектра клинически значимых мутаций в метастатической меланоме женских гениталий. Материалы и методы. Изучено 24 образца ДНК метастатической меланомы кожи (МК) и/или слизистой из области гениталий у 15 пациенток (П), вкл. 2 П с онкологически отягощенным анамнезом. Мутации анализировали с помощью специфичных ПЦР на матрице ДНК, выделенной из срезов верифицированного архивного и/или биопсийного материала с последующим прямым секвенированием ампликонов. Результаты. Выявлены 4 мутации BRAF V600E в экзоне 15 (~3%), определяющие чувствительность к вемуруфенибу (Зельборафу) – все в образцах МК, вкл. 1 случай МК с отдаленными метастазами; 2 редкие мутации в экзоне 11 гена KIT, приводящие к замене Глу>Гис в кодоне 556: Q556→H – у 2П с онкологически отягощенным анамнезом. В процессе таргетной терапии иматинибом (Гливеком) у этих 2П наблюдалась стабилизация опухолевого процесса и частичная регрессия опухоли. Позже в биопсийном материале из метастатического пахового узла одной из П была выявлена минорная мутация NRAS G12Cys, определяющая чувствительность опухоли к иматинибу, а, возможно, к иммунотерапии интерлейкином и ипилимумабом. Результаты свидетельствуют о молекулярно-генетической неоднородности меланомы слизистых оболочек гениталий, позволяющей опухоли избежать действия таргетных препаратов за счет пролиферации клеток, несущих другие драйверные мутации или генетические изменения. У одной из П в метастазе и в послеоперационном рубце меланомы вульвы была обнаружена делеция в экзоне 11 гена KIT – del579/ASP (GAT), таргетная терапия ей не проводилась. Выводы. В образцах МК и/или слизистой гениталий, полученных от 15П выявлено 4 (~3%) мутаций в гене BRAF (только образцы МК), 3 (~2%) – в гене KIT и 1- NRAS. Это позволяет назначить таргетную терапию, приводящую к регрессии опухоли и/или к улучшению качества жизни пациенток, возможна комбинированная иммунотерапия.



ВОСТРЕБОВАННОСТЬ ОБРАЗЦОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ В БАНКАХ ПЕРСОНАЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ

Потапов И.В., Приходько А.В., Исаев А.А.

ПАО «Институт Стволовых Клеток Человека», банк пуповинной крови «Гемабанк»

В мире проведено более 35 тыс. неродственных трансплантаций (ТП) с использованием образцов пуповинной крови (ПК) донорских банков, в которых хранится более 700 тыс. образцов. При этом в банках персонального хранения (БПХ) хранится более 4 млн образцов ПК. Эти образцы также используются для ТП.

Некоторые БПХ публикуют статистику востребованности хранящихся у них образцов ПК (см. таблицу). Указано количество выданных образцов ПК и величина востребованности, рассчитанная из общего количества хранящихся образцов.

Vita34 (Германия)	Viacord (США)	Гемабанк (РФ)	
Алло/ауто ТП	10/18	160/109	16/3
Востребованность	1/4400	1/1300	1/1250

В крупнейшем российском банке ПК «Гемабанк» (Москва) было выдано 4 образца ПК для проведения родственных аллогенных ТП для лечения старшего ребенка в семье с диагнозами «нейробластома IV ст.», «ювенильный миелолейкоз», «анемия Фанкони», «синдром Швахмана-Даймонда. 15 образцов было выдано для лечения ДЦП. Востребованность образцов ПК в «Гемабанке» находится на уровне ведущих БПХ, но эти значения выглядят достаточно скромно. Но при этом нужно учесть, что средний возраст детей, чьи образцы ПК находятся на хранении, составляет примерно 10 лет. В этом возрасте необходимость в ТП маловероятна. Но с течением времени востребованность образцов ПК БПХ будет только расти, поскольку появятся пациенты, которым будет необходима аутоТП гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и у которых уже будет в наличии готовый к использованию образец ПК. Также появляются показания к применению ПК при неонкогематологических заболеваниях (в регенеративной медицине) у иммунокомпетентных пациентов, в т.ч. без учета тканевой совместимости пары донор-реципиент. В мире уже имеется опыт использования ГСК, например, при ишемической болезни сердца, а эффективность клеток ПК человека показана в исследовании на модели инсульта.

Таким образом, образцы ПК, которые хранятся в БПХ, в будущем могут активно использоваться в онкогематологии и для лечения болезней внутренних органов.



КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С НАРУШЕНИЕМ ОСТЕОРЕПАРАЦИИ

Попандопуло А.Г., Буше В.В.

Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака, Донецк

Не смотря на значительные успехи в лечении переломов и посттравматических дефектов костной ткани, количество осложнений, связанных с нарушением или замедлением процесса остеорепакации, остается довольно высоким (до 25%). Основываясь на данных собственных исследований *in vitro* и *in vivo*, проведены клинические исследования, целью которых явилось изучение эффективности использования аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), полученных из костного мозга, для восстановления дефектов костной ткани.

В исследованиях приняло участие 27 пациентов (23 мужчины и 4 женщины) с нарушениями остеорепаративного процесса: у 13 пациентов имелись длительно несрастающиеся переломы (от 9 мес. до 2,5 лет), у 8 – дефекты костной ткани, у 6 – ложные суставы.

Трансплантацию ММСК осуществляли двумя способами. При наличии нормотрофических и гипертрофических ложных суставов, а также длительно несрастающихся переломов со щелевым диастазом между костными фрагментами производили трансплантацию ММСК инъекционным способом строго в межфрагментарную область. При наличии переломов с обширными дефектами костной ткани, трансплантацию ММСК осуществляли на 3D-носителях (в виде остеопрогенированного трансплантата). Положительные результаты лечения были получены у 26 пациентов (96,2%). Сроки восстановления целостности костной ткани составили от 4 до 9 месяцев и зависели от вида и размеров повреждения костной ткани.

Проведенные клинические исследования позволяют утверждать, что метод лечения повреждения костной ткани различного генеза путем трансплантации ММСК обладает высокой клинической эффективностью.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ НА ЖИВОТНЫХ ДЕЦЕЛЛЮЛИРОВАННЫХ СОСУДИСТЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ

Попандопуло А.Г., Савчук М.В.

Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака, г. Донецк



Применение аутоматериала считается своего рода «золотым стандартом» в сосудистом протезировании. В то же время часто иссечение аутологичного сосуда необходимых формы и размера невозможно вследствие ряда причин. В такой ситуации целесообразно использование современных возможностей технологий тканевой инженерии.

Целью данной работы было испытание в условиях *in vivo* децеллюляризированной ксеногенной ткани (фрагмента сосудистой стенки свиньи) в качестве сосудистой заплаты при протезировании животных другого вида (собак).

Исследование проводили с использованием фрагментов свиных сосудов, децеллюляризованных посредством обработки апоптозвызывающим раствором ЭДТА (Sigma, США). На протяжении всего срока обработки использовалось роллерное перемешивание раствора. В дальнейшем обработанные сосуды имплантировались в виде заплаты размером 20мм x 20мм в область брюшного отдела аорты собаки с последующим извлечением имплантата для гистологического исследования на 3 сутки, через 3–3,5 месяца (104 ± 5 сутки) и через 6 месяцев (210 сутки) после имплантации.

Анализ гистологических препаратов показал, что заплаты на всех сроках наблюдения имели неизмененную трехслойную структуру. Интима заплат, иссеченных в 3–6 месяцы покрыта эндотелием. Медия на всех препаратах либо нормальной толщины, либо, на более поздних сроках наблюдения (6 месяцев), умеренно утолщена. В ней обнаруживается грубоволокнистая соединительная ткань. Наблюдается начало формирования сосудистой сети ксенографта, врастающей в него со стороны артерии собаки.

Результаты исследования *in vivo* показали, что полученные децеллюляризованные ксенососуды более выигрышны по сравнению с искусственными заменителями с точки зрения скорости процессов эндотелизации, неоангиогенеза и способности трансплантата к заселению клетками, мигрирующими из окружающих его тканей.

ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ МИОКАРДА У ЛИКВИДАТОРОВ АВАРИИ НА ЧАЭС, СТРАДАЮЩИХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ КАРДИОМИОБЛАСТОВ И ПРОВЕДЕНИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ

Поповкина О.Е., Каплан М.А., Конопляников А.Г.

МРНЦ им. Цыба А.Ф. – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России,
Обнинск, Россия

Актуальность. Известно, что заболеваемость и смертность от сердечно-сосудистой патологии у участников поставарийных работ на ЧАЭС в работоспособном возрасте достоверно выше, чем в популяции. Во многих исследованиях отмечена выраженная активизация микроциркуляции, антиаритмический, анальгетический, антиишемический эффекты трансплантации кардиомиобластов (ТКМ) и низкоинтенсивного инфракрасного лазерного



излучения (НИЛИ). Эти эффекты позволяют активно применять данную методику при лечении ХСН у ликвидаторов.

Цель. Оценить эффективность ТКМ и НИЛИ при лечении ХСН у ликвидаторов с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОЭКТ).

Материалы и методы. Обследовано и пролечено 78 ликвидаторов с ХСН II–IV ФК. 42% в возрасте 46–60 лет. В I группе (56 больных) проводилось комплексное лечение с ТКМ и НИЛИ на фоне базисной терапии, во II группе (22 пациента) – базисная медикаментозная терапия согласно рекомендациям ВНОК и ОССН. Выполнялась ОЭКТ миокарда до лечения, через 6, 12 и 24 месяца. ТКМ проводилась однократно путем внутривенной инфузии культуры клеток (порядка 2×10^8 клеток). Применялся полупроводниковый лазерный аппарат с импульсным излучением, длиной волны 890 нм на проекцию миокарда. Курс – 10 сеансов.

Результаты. В I группе выявлено усиление перфузии миокарда и сократительной функции, уменьшение объемов ЛЖ ($p < 0,05$) на период до 2 лет, ухудшения не отмечено. Во II группе выросли дефекты перфузии, прогрессировало ремоделирование миокарда ЛЖ.

Выводы. Положительное действие применения трансплантации кардиомиобластов и НИЛИ на фоне медикаментозной терапии на систоло-диастолическую функцию, процессы ремоделирования миокарда, усиление перфузии, позволяет использовать данный метод в лечении ликвидаторов с ХСН II–IV ФК.

О РОЛИ БЕЛКА ABCG2 В ПОДДЕРЖАНИИ ЖИЗНЕ-СПОСОБНОСТИ И РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МСК В КУЛЬТУРЕ ПРИ ГИПОКСИИ

Полешко А.Г., Волотовский И.Д.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь

Установлено, что низкие концентрации O_2 (5%) в среде культивирования повышают скорость роста мезенхимальных стволовых клеток (МСК) *in vitro*, по сравнению с условиями нормоксии (21% O_2), с сохранением их дифференцировочного потенциала и поддержанием высокой жизнеспособности. Вместе с тем до настоящего времени остаются недостаточно понятными механизмы, обеспечивающие данное поведение клеток.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния гипоксии (5% O_2) на экспрессию белка транспортера порфиринов ABCG2 и гена белка p53, а также содержания АФК в МСК при их культивированных *in vitro* в этих условиях.

МСК получали из костного мозга большеберцовой и бедренной костей крыс и культивировали в стандартных условиях (5% CO_2 , 95% атмосферного воздуха) до 2 пассажа в среде α -МЕМ с 10% ФБС, на 3 пассаже МСК переводили в гипоксические условия (5% CO_2 , 5% O_2 , 90% N_2) и культивировали в питательной среде того же состава 3 сут. Для опре-



деления экспрессии белка ABCG2 и содержания АФК (O₂·⁻, H₂O₂) использовали проточную цитофлуориметрию, для исследования экспрессии гена белка p53 ПЦР в реальном времени.

Выявлено, что в ответ на гипоксию наблюдается значительное повышение экспрессии белка ABCG2. При этом в МСК снижается содержание АФК и экспрессия гена p53, а также падает уровень апоптотических клеток по сравнению с нормоксией. Кроме того добавление функционального блокатора ABCG2 фумитреморгина С в среду при нормоксии приводит к росту содержания в клетках порфиринов и АФК, приводящих к гибели клеток по механизму апоптоза. Учитывая феномен активации синтеза порфиринов/гема при низких концентрациях O₂, а также биологические эффекты, которые могут оказывать на клетку p53 и АФК, можно предполагать, что белок ABCG2 выполняет регуляторную роль, оптимизируя функционирование МСК в условиях 5% гипоксии.

НАЗВАНИЕ ТЕЗИСОВ СЛИЗИСТАЯ ОБОЛОЧКА ДЕСНЫ – НОВЫЙ ИСТОЧНИК МИОБЛАСТОВ

Пулин А.А.¹, Еремин И.И.¹, Зорин В.Л.^{2,3}, Корсаков И.Н.¹,
Гринаковская О.С.¹, Чаузова Т.С.³, Лазарева Н.Л.¹,
Еремин П.С.¹, Гомзяков А.Е.¹, Самчук Д.П.¹,
Гильмутдинова И.Р.¹, Петрикина А.П.¹, Деев Р.В.^{2,3},
Бозо И.Я.^{2,3}, Витько Н.К.¹, Тимашков Д.А.¹, Копнин П.Б.⁴,
Котенко К.В.⁵

1 – ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой», Москва, Россия,

2 – ПАО «ИСКЧ», Москва, Россия.

3 – ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

4 – ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина», Москва, Россия

5 – Главное медицинское управление Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

Миобласты являются перспективным объектом исследований с целью применения их в регенеративной медицине для лечения пациентов с мышечными заболеваниями. Однако основной источник получения миогенных клеток (скелетные мышцы человека) и метод забора биоматериала имеют ряд недостатков. Так, забор биоптата характеризуется высокой степенью травматизации ткани. Сами клетки, полученные из мышечной ткани, обладают невысоким пролиферативным потенциалом в условиях *in vitro*. Эта особенность усугубляется с возрастом, особенно у больных с мышечными дистрофиями, что делает практически невозможным проведение аутологичной клеточной терапии.

Нашим исследовательским коллективом впервые получены миогенные клетки из альтернативного источника – слизистой оболочки полости рта (десны).

Нами отработана технология получения миобластов, которая состоит из следующих основных стадий: забор биоптата (диаметром 2–3 мм²) десны из ретромолярного пространства; получение первичной культуры миобластов; иммунофенотипирование клеток; криоконсервация и хранение полученной культуры миобластов; размораживание клеточ-



ной культуры (жизнеспособность клеток $92 \pm 2\%$).

Миобласты, выделенные из десны человека, в клеточной культуре проходят следующие этапы: адгезия клеток к культуральному пластику, пролиферация сателлитных клеток; формирование миобластов с последующим их слиянием с образованием многоядерных миотуб; формирование миофибрилл, характеризующихся сократительной активностью. Иммуноцитохимический анализ и данные ПЦР подтверждают миогенную природу исследуемых клеток.

Закключение. Нашим коллективом впервые выделена и охарактеризована культура миогенных клеток из альтернативного и легкодоступного источника – десны человека. Результаты работы позволяют значительно упростить проведение аутологичной клеточной терапии у пациентов с мышечными заболеваниями.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-25-00166).

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ И НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА НА ПАМЯТЬ МЫШЕЙ С НЕЙРО- ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ АЛЬЦГЕЙМЕРОВСКОГО ТИПА

ПОЛТАВЦЕВА Р.А.¹, БОБКОВА Н.В.², САМОХИН А.Н.², СУХИХ Г.Т.¹

1 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава РФ

2 – Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Московской области, ул. Институтская, 3

Актуальность. Поиск подходов в лечении болезни Альцгеймера является одной из главных медицинских и социально-экономических задач.

Цель работы: изучить эффективность влияния внутривенной и внутримозговой трансплантации мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) и нейральных стволовых клеток (НСК) плода человека на пространственную память ольфакторно бульбэктомированных мышей (ОБЭ), развивающих основные признаки спорадической формы болезни Альцгеймера.

Материалы и методы. Самцам мышей линии NMRI с двусторонним удалением обонятельных луковиц и ложнооперированным животным, без удаления, трансплантировали культуры ММСК и НСК плода человека. ММСК выделяли из костного мозга, культивировали в среде DMEM/F12 с 10% эмбриональной телячьей сывороткой, НСК в бессывороточной среде DMEM/F12 с EGF, FGF2, N2 – supplement. Через 8 мес. после операции мышей распределяли в 12 групп, в хвостовую вену или в паренхиму коры головного мозга вводили культуру ММСК или НСК 3-его пассажа, 1 млн. клеток/животное, в качестве контроля – физиологический раствор. Через 1 и 3 мес. после трансплантации у животных тестировали уровень пространственной памяти в водном лабиринте Морриса.

Результаты: через 3 месяца после введения ММСК и НСК у мышей с ОБЭ улучшалась пространственная память, что проявилось в узнавании мишеневого отсека лабиринта



Морриса, где при обучении располагалась спасательная площадка.

Выводы: показана эффективность как внутримозговой, так и системной трансплантации культур ММСК и НСК для коррекции поведенческих проявлений нейродегенерации альцгеймеровского типа. Возможность использования нетравматичного системного введения ММСК и НСК открывает широкие перспективы использования в практической медицине.

Исследование выполнено при поддержке РФ (грант № 14-25-00179).

ТРАНСПОРТ МИТОХОНДРИЙ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ОБЕСПЕЧИВАЕТ ИХ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРИ ИНСУЛЬТЕ

Плотников Е.Ю.^{1,4}, Бабенко В.А.^{2,4}, Силачев Д.Н.^{1,4},
Зорова Л.Д.^{3,4}, Певзнер И.Б.^{1,4}, Хуторненко А.А.², Сухих Г.Т.⁴,
Зоров Д.Б.^{1,4}

1 – НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского

2 – Факультет биоинженерии и биоинформатики,

3 – Международный учебно-научный лазерный центр, Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва,
Россия;

4 – Центр акушерства, гинекологии и перинатологии им.
В.И. Кулакова, Москва, Россия

Одним из наиболее перспективных типов клеток для терапии ишемических повреждений мозга считаются мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК). Их нейропротекторный потенциал широко показан в экспериментальных исследованиях, однако, механизмы положительно эффекта при их трансплантации продолжают изучаться. Одним из механизмов положительного действия ММСК может быть межклеточный обмен компонентами цитоплазмы и митохондриями.

В данном исследовании мы проанализировали роль межклеточных контактов и транспорта митохондрий между ММСК в реализации нейропротекторного эффекта стволовых клеток. Мы обнаружили, что при сокультивировании ММСК и нейронов коры головного мозга крыс между этими клетками образовывались многочисленные контакты, и через них происходил обмен митохондриями. При этом митохондрии передавались только от ММСК к нейронам, а не наоборот. Внутривенное введение ММСК после экспериментального инсульта у крыс приводило к снижению патологических изменений в мозге, уменьшению объема инфаркта и частичному восстановлению неврологического статуса, более выраженному у сокультивированных ММСК. Наконец, нами была показана возможность передачи митохондрий *in vivo* из трансплантированных ММСК в нейроны головного мозга. Мы считаем, что именно передача митохондрий от ММСК в нейроны может, по крайней мере, частично обеспечивать нейропротекторные свойства стволовых клеток



при инсульте. Этот подход может использоваться для дальнейшей разработки способов клеточной терапии и улучшения свойств ММСК при лечении инсульта и других поражений головного мозга, а возможность терапевтической трансплантации митохондрий с помощью стволовых клеток открывает новые перспективы для митохондриальной медицины.

ИМПЛАНТАТЫ С АНТИБИОТИКАМИ В ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНОЙ КОСТНОЙ РАНЫ

Рагинов И.С.¹, Егоров В.И.¹, Валиуллин Л.Р.¹, Акатов В.С.²,
Очкуренко А.А.³, Рябов А.Ю.⁴, Лекишвили М.В.³

1 – Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань;

2 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино;

3 – ФГБУ ЦИТО им. Н.Н. Приорова, Москва

4 – Стоматологический центр «Интердентос», Королев.

Известно, что остеомиелит – это гнойно-некротический процесс, развивающийся в кости и костном мозге, а также в окружающих их мягких тканях, вызываемый пирогенными бактериями или микобактериями. Достаточно частое тяжелое заболевание с большим количеством инвалидизации требует разработки новых тактик лечения этой тяжелой костной патологии. Одним из способов лечения остеомиелита в ЕС, в частности в Австрии, является санация костного дефекта с последующей его пластикой костными аллоимплантатами, импрегнированными антибиотиками (Winkler H. 2009).

Целью исследования стало выявление возможностей и эффективности локального использования биологических имплантатов, импрегнированных антибиотиками в ходе хирургического лечения гнойной костной раны в условиях *in vivo*.

Для изготовления имплантатов мы использовали условия сверхкритического CO₂ с целью максимальной очистки биологического материала (костная ткань) от липидов и видоспецифических протеинов. После очистки костной ткани провели импрегнацию материала раствором ванкомицина.

Костную гнойную рану формировали 3-х кратным введением каждые третьи сутки суспензии *E. coli* в нижнюю треть бедренной кости экспериментального животного. В качестве экспериментальных животных использовали 3 овцы и 9 кроликов. Через 10 суток после начала инфицирования животных проводилась санация костных ран, одну заполняли имплантатами с ванкомицином, рана контралатеральной конечности выполняла роль контроля эксперимента и ничем не заполнялась.

В процессе эксперимента проводился рентгенологический контроль костных ран. Оценка результатов лечения проводилась на основании морфологического анализа области костной раны с имплантатами и без них после выведения животных из эксперимента.

Полученные рентгенологические и морфологические результаты нашего исследования указывают, что метод местного использования имплантатов с антибиотиками в лече-



нии гнойной костной раны оказался эффективным. Необходимо дальнейшие исследования, касающиеся концентрации антибиотиков в имплантатах, их регуляция, скорость высвобождения антибиотиков из имплантатов при нахождении в инфицированной костной ткани.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ АМОРФНОГО НАНОДИСПЕРСНОГО ГИДРОКСИАПАТИТА КАЛЬЦИЯ В ЛЕЧЕНИИ ПАРОДОНТИТА

Ралович И.С., Модина Т.Н., Круглова И.С.

ИУВ ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

В последние годы в лечении пациентов с воспалительно-деструктивными процессами на пародонте отмечается тенденция приоритетного использования остеопластических материалов синтетического происхождения. Совершенствование технологических процессов производства способствовали созданию материалов с остеокондуктивными и/или остеоиндуктивными свойствами, которые успешно применяются в регенеративной медицине. Целью настоящего исследования явилось экспериментально-клиническое изучение эффективности отечественного остеопластического материала, состоящего из биоактивных, аморфных, нанодисперсных частиц гидроксиапатита кальция и гиалуроновой кислоты – «Гиалуост», в сравнительной оценке с биокомпозиционным, наноструктурированным материалом «КоллапАн».

Материалы и методы: Экспериментальное исследование проводилось на 60 половозрелых крысах (3 группы по 20 особей). Изучение репаративных процессов проводилось с использованием морфологической и морфометрической оценки формирующейся костной мозоли в зоне дефекта по объемной доли новообразованной кости в интермедиарной и эндостальной зонах. Клиническая часть работы заключалась в комплексном лечении 150 пациентов с диагнозом хронический генерализованный пародонтит (ХГП) тяжелой степени в возрасте от 40 до 50 лет (82 женщины и 68 мужчин), где во время лоскутных операций применялись исследуемые материалы.

Результаты эксперимента показали, что во всех группах наблюдался процесс формирования костной ткани. При этом в основной группе (Гиалуост) значительный прирост костной массы отмечался в интермедиарной зоне к 1 и 2 месяцам, а к 3 месяцам процесс замедлялся, и сохранялось значительное количество гранул. Однако в группе сравнения (КоллапАн) формирование кости отмечалось преимущественно в эндостальной мозоли и к 3 месяцам выявлялись лишь отдельные частицы материала.

Анализ результатов комплексного лечения 150 пациентов с применением исследуемых материалов показал тенденцию на увеличение значений костного показателя. Было отмечено, что медленный процесс резорбции материала «Гиалуост» и длительное сохра-



нение его гранул в костных дефектах, что подтверждается результатами рентгенологического мониторинга, обеспечивает объем восстанавливаемых опорных костных структур, устойчивое положение мягких тканей и уровня маргинальной десны без выраженных признаков рецессии.

Выводы: таким образом, исследуемые материалы «Гиалуост» и «КоллапАн», могут успешно применяться на хирургическом этапе комплексного лечения пациентов с пародонтитом с целью оптимизации процессов регенерации костной ткани, что способствует сохранению зубов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОДИСПЕРСНОГО БИОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА

РАХМАТУЛЛИН Р.Р.¹, ШЕВЛЮК Н.Н.², МОКРИЦКИЙ И.Л.¹,
БУРЦЕВА Т.И.¹

1 – ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет»,
Оренбург, Россия

2 – ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург

Разработка пластических материалов с заданными биоинженерными свойствами является актуальной проблемой регенеративной медицины.

Цель исследования – морфофункциональная оценка слизистой оболочки желудка крыс в условиях экспериментальной язвы при использовании микродисперсного биопластического материала.

Материалы и методы исследования. Микродисперсный биопластический материал – это структурированный полимер гиалуроновой кислоты с буферным комплексом (Патент РФ №2557529).

Объект исследования – 36 половозрелых крыс-самцов линии Wistar массой 160–180 г. (27 животных опытной и 9 контрольной групп). Модель «острой» язвы воспроизводили однократным введением интрагастрально через зонд нестероидного противовоспалительного препарата (НПВП) диклофенака. В опытной группе через сутки от начала эксперимента интрагастрально через зонд вводили 1 мл гелевой формы микродисперсного биопластического материала в течение 5 суток.

На фоне введения нестероидного противовоспалительного препарата в слизистой оболочке желудка экспериментальных животных первой группы отмечаются комплекс деструктивных изменений различной степени выраженности – от незначительных повреждений покровного эпителия до образования язвы, захватывающей все слои слизистой оболочки. В контрольной группе отмечалось прободение язвы и падёж (60%). В опытной группе с третьих суток отмечено значительное уменьшение отёка тканей, снижение лейкоцитарной инфильтрации, репарация повреждённых участков покровного эпителия.



Таким образом, полученные на модели экспериментальной язвы желудка результаты свидетельствуют о выраженных протекторных свойствах микродисперсного биопластического материала.

АУТОТРАНСПЛАНТАЦИЯ МИКРОГРАФТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ В ПРЕФАБРИКАЦИИ СЛИЗИСТО-МЫШЕЧНЫХ АУТОТРАНСПЛАНТАТОВ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТКАНЕЙ ОРОФАРИНГЕ- АЛЬНОЙ ОБЛАСТИ

РЕШЕТОВ И.В., РЕБРИКОВА И.В., ПОЛЯКОВ А.П.,
РАТУШНЫЙ М.В., МАТОРИН О.В., ФИЛЮШИН М.М.

МНИОИ им П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» – Минздрава Рос-
сии, Москва, Россия

Цель работы: разработка методики префабрикации трансплантатов для получения эпителиальной выстилки на фасции мышцы с применением аутологичной слизистой оболочки и биорезорбируемого материала для устранения дефектов орофарингеальной области.

Материалы и методы. Проведено моноцентровое проспективное рандомизированное исследование, которое включало 2 группы пациентов со злокачественными опухолями орофарингеальной области по 18 человек в каждой. В I группе пациентов выполняли микрографтинг слизистой оболочки полости носа, во II группе – слизистой оболочки полости рта. На первом этапе реконструктивного лечения всем пациентам выполняли префабрикацию трансплантатов путем имплантации микрографтов слизистой оболочки на фасцию большой грудной или широчайшей мышцы спины с укрыванием и дополнительной фиксацией их резорбируемой викриловой сеткой на срок 21, 30, 45 и 60 дней. Вторым этапом выполняли реконструкцию тканей орофарингеальной области перемещенными префабрицированными аутоотрансплантатами с биопсией зоны имплантации слизистой оболочки.

Морфологическое исследование префабрицированных фрагментов трансплантатов в I группе пациентов в 50% случаев показало формирование полноценного эпителия, во II группе – в 94% случаев. Положительные результаты пластики в I и во II группах получены в 94% случаев. Полное восстановление функции органов получено в 76% случаях в I и во II группах. У 2 пациентов в I группе и у 1 пациента во II группе послеоперационный период осложнился образованием лигатурных свищей, которые после проведения консервативной терапии закрылись в сроки от 12 до 24 дней без отрицательного влияния на трансплантат.

Обсуждение: префабрицированная ткань в виде гладкого слоя с полностью резорбировавшимися шовным материалом и викриловой сеткой через 45 и 60 дней является наиболее оптимальной для моделирования её по форме и размеру соответствующего



дефекта, а также для фиксации и адаптации её со слизистой по периметру дефекта. Многослойный плоский эпителий слизистой полости рта лучше адаптируется и разрастается на фасции мышцы, чем мерцательный цилиндрический эпителий полости носа.

Выводы: разработанная методика префабрикации трансплантатов с применением аутологичной слизистой оболочки полости рта и викриловой сетки позволяет получить полноценный эпителий на фасции мышцы в 94% случаев, способствует улучшению результатов устранения дефектов орофарингеальной области с восстановлением слизистой оболочки и мягких тканей, обеспечивая полноценную анатомическую и функциональную реабилитацию.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИНАМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ЗАСЕЛЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ТРЕХМЕРНЫЕ МАТРИКСЫ ИЗ ПОЛИЛАКТИДА, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КОЛЛА- ГЕНОМ

Родина А.В., Тенчурин Т.Х., Москалева Е.Ю., Чвалун С.Н.,
СЕВЕРИН С.Е..

НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Микроволокнистые матриксы из полилактида обладают высокой механической прочностью, способностью к биорезорбции, отсутствием токсичности, однако из-за отсутствия полярных функциональных групп проявляют высокую гидрофобность, что негативно влияет на адсорбцию белков, а также существенно ограничивает проникновение клеток в поры трехмерных структур (пролиферация клеток наблюдается на поверхности и в прилегающих слоях). Поэтому для оптимизации процессов миграции и пролиферации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в трехмерных матрицах из полилактида необходима как модификация поверхности материалов, так и специальная перфузионная система для заселения МСК в матриксы. Поэтому целью работы явилась оценка эффективности динамического способа нанесения коллагена и заселения МСК в микроволокнистые матриксы из полилактида.

Микроволокнистые матрицы были изготовлены методом электроформования (средний размер пор – $33 \pm 0,5$ мкм, диаметр волокон – $10 \pm 2,3$ мкм, толщина – 0,6 мм). МСК получали из костного мозга мышей линии C57/BL6 и после 6 пассажей засевали в матриксы. Модификация матрицы 0,01% раствором коллагена осуществлялась прокачиванием под давлением, либо инкубацией в течение 12 ч при 40°C. МСК высевали статическим и динамическим методами (в перфузионной системе вносили 100 тыс. в 10 мл среды со скоростью 1 мл/мин). Оценку жизнеспособности клеток через 3 суток культивирования на матриксах проводили с помощью МТТ-теста.

По результатам МТТ-теста, на матрице, модифицированной коллагеном в результате инкубации, через 3 суток после посева МСК в статических условиях их прирост соста-



вил 3%, а при заселении МСК в динамических условиях – 47%. Модификация матрицы прокачиванием коллагена под действием давления привела к увеличению пролиферативной активности МСК, нанесенных в статических условиях на 269%, а в динамических условиях – на 748%. Таким образом, в динамических условиях обеспечивается наиболее равномерное распределение коллагена на волокнах и повышается эффективность прохождения клеток внутрь трехмерных микропористых матриксов.

ФУЛЛЕРЕНЫ C85N10H60CL6, C60P5015H6K5, C105010K5CLH40 И МУЖСКОЕ ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

Руднева С.А.¹, Ермолаева С.А.¹, Трошин П.А.², Костюк С.В.¹,
Курило Л.Ф.¹

1 – ФБГУ «Медико-генетический научный центр РАМН»

2 – Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка.

В настоящее время фуллерены (наноструктуры углерода) представляют для специалистов весьма перспективный материал для использования его как в промышленности, так и в медицине. Некоторые виды терапии, основанной на наноматериалах, уже находятся в стадии клинических и доклинических испытаний. В связи с этим, важным становится изучение влияния фуллеренов на здоровье человека, в частности, на мужскую репродуктивную систему. Как показали ранее проведенные исследования, фуллерены способны достаточно легко проникать в организм через легочно-альвеолярную ткань. Кроме того, они сохраняют свою специфическую активность, встраиваясь в те или иные внутриклеточные структуры тканей организма.

В связи с вышеизложенным мы изучили влияние *in vitro* трех видов модифицированных фуллеренов, в частности C85N10H60CL6, C60P5015H6K5, C105010K5CLH40 на основные параметры сперматозоидов, а именно их подвижность и жизнеспособность (целостность мембраны сперматозоидов).

Материалы и методы: Эякулят был получен общепринятым методом. Оценка параметров осуществляли по стандартам ВОЗ-2010. Фуллерен разводили до конечной концентрации 1 мг, 0,1 мг и 0, 01 мг/мл. Эксперименты со всеми концентрациями были воспроизведены 10 раз.

Результаты и обсуждение: Как известно, фуллерены способны в определенных условиях стимулировать процессы перекисного окисления липидов, приводящие к повреждению клеточных мембран. В связи с этим, нами было изучено влияние фуллеренов (в концентрациях 1 мг, 0,1 мг и 0, 01 мг/мл) на целостность мембран сперматозоидов. Препараты инкубировались в течение 3 часов при температуре 37. Было показано, что в данных условиях (при различных концентрациях и времени инкубации), фуллерен вида C105010K5CLH40 не вызывал повреждения мембран половых клеток (по сравнению с контролем), тогда как фуллерены видов C85N10H60CL6 и C60P5015H6K5 приводили к снижению количества жизнеспособных сперматозоидов по сравнению с контролем на 10–30%



в зависимости от концентрации и времени инкубации. Кроме того, фуллерены оказывали разнообразное влияние на подвижность сперматозоидов. Фуллерены C105O10K5C1N40, C60P5O15H6K5 способствовали увеличению подвижности сперматозоидов по сравнению с контролем. Максимальное увеличение наблюдалось при концентрациях C105O10K5C1N40-0,1 мг и 0,01 мг/мл и времени инкубации 3 часа на 60% и 33%, соответственно. Существенное увеличение подвижности сперматозоидов на 23% по сравнению с контролем было отмечено также при концентрации C60P5O15H6K5 -0,1 мг/мл и времени инкубации 1 час. Фуллерен C85N10H6OCl6, напротив, способствовал полному обездвиживанию сперматозоидов при концентрациях 1 мг/мл, 0,1 мг/мл. При этом важно подчеркнуть, что достоверное падение подвижности практически до нуля происходило уже в течение первого часа и к 3 часам приводило к полному обездвиживанию сперматозоидов. К сожалению, на сегодняшний день мы не можем с уверенностью ответить на вопрос о механизме, лежащем в основе, как стимулирующего, так и подавляющего подвижность сперматозоидов, действия фуллеренов. Можно лишь предположить, что наблюдаемый эффект связан с активацией или подавлением энергетического аппарата сперматозоидов.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ МЕТОДОВ КЛЕТОЧНОЙ, ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ ВОССТА- ВИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

АГРБА В.З.², АРАВИАШВИЛИ Д.Э.², БУДАНОВ Р.В.¹,
ГВАРАМИЯ И.А.², ИГНАТОВА И.Е.², КАРАЛ-ОГЛЫ Д.Д.²,
ЛЮБЯКОА.А.¹, ПЕТРОВА Е.С.¹, ПЕТРУШЕВСКАЯ В.В.¹, РУСИЯ А.Г.¹,
СЕРГЕЕВА Н.В.²

1 – ФГБУ НИЦКиР ФМБА России, г. Сочи, Россия

2 – ФГБУ «НИИ МП РАН», г. Сочи, Россия

В последние десятилетия в клинической практике стали широко применяться методы клеточной, тканевой и органной восстановительной терапии. Одним из направлений этих методов является применение перфузатов, содержащих инкрет жизненно важных органов, включающих комплекс биологически активных веществ животного происхождения (БАВ), представляющих собой набор метаболитов и тканевых субстратов пептидной природы молекулярной массой от 2,5 тыс. до 50 тыс. дальтон.

Цель настоящего сообщения: демонстрация результатов исследования биологической безопасности БАВ. Работа выполнена на 16 лабораторных мышах, культуре клеток, 72 крысах линии CD и 6 половозрелых обезьянах макаках резус при исследовании БАВ, полученных в результате 45 минутной изолированной экстракорпоральной перфузии гипофиза, гипоталамуса, селезенки, щитовидной железы, почки и тимуса новорожденных поросят в дозах от 1,79•10⁻⁵ мг/кг до 181,19•10⁻⁵ мг/кг.

Показано, что БАВ по CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+ не обладают иммунотоксичностью, не содержат провоспалительных цитокинов, а лимфоциты крови сохраняют функциональную способность продуцировать интерфероны. Не выявлены также изменения



IgE, IgM, IgG, тератогенных, эмбрио и цитотоксических свойств БАВ. В опытах на иммуносупрессированных мышцах не установлены онкогенные свойства, а цитогенетический тест (кариотипический анализ метафазных пластинок) не выявил мутагенные свойства БАВ. В опытах на монослойных и суспензионных культурах клеток показано, что БАВ не обладают цитотоксичностью.

Таким образом, БАВ, входящие в состав перфузатов исследованных органов в дозе до 181,19•10⁻⁵ мг/кг отвечают всем требованиям биологической безопасности.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУНОСУПРЕССОРНОЙ ПРОГРАММЫ МСК IN VITRO

Романов А.Ю., Горюнов К.В., Суздальцева Ю.Г.,
Рубцов Ю.П., Ткачук В.А.

Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Актуальность. Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) обладают уникальными способностями модулировать иммунный ответ и регулировать регенерацию тканей, что позволяет рассматривать их как потенциальный инструмент для лечения дегенеративных и аутоиммунных заболеваний. В этой связи, изучение механизмов действия МСК на клетки иммунной системы и способов их регуляции представляет особый интерес.

Цель работы. Изучение молекулярных механизмов иммуносупрессии, опосредованных МСК, в системе со-культивирования in vitro.

Материалы и методы. В работе использован широкий спектр методик, включая выделение и культивирование МСК из жировой ткани человека, получение фракции мононуклеарных клеток периферической крови человека (МПК), со-культивирование двух клеточных типов in vitro в условиях прямого клеточного контакта и с использованием полупроницаемых мембран. Клетки и среды культивирования и со-культивирования были охарактеризованы методами ОТ-РТ-ПЦР, иммуноблоттинга, проточной цитометрии, иммуноферментного анализа.

Результаты. Выявлен иммуносупрессорный эффект МСК, заключающийся в снижении уровня экспрессии рецептора активации (CD25) на поверхности активированных CD4⁺ Т-клеток. Ингибирующий эффект МСК оказался более выраженным в условиях контактного со-культивирования. Достоверного увеличения уровня апоптоза активированных CD4⁺ Т-клеток при со-культивировании с МСК выявлено не было. Показано, что при со-культивировании с МПК в МСК увеличивается экспрессия генов индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и индоламин-2,3-дезоксигеназы (IDO), а также повышается синтез и ферментативная активность IDO. В то же время, изменения активности iNOS выявлено не было. При добавлении ингибитора IDO в среду со-культивирования наблюдалось выраженное снижение иммуносупрессорного эффекта МСК.

Выводы. Иммуносупрессорное действие МСК проявляется в ходе как контактного, так и паракринного взаимодействия на клетки иммунной системы. Эффект МСК заключа-



ется в снижении уровня CD25 на поверхности CD4+ Т-клеток и оказывается, преимущественно, за счет действия IDO на активированные клетки.

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ ТРАВМИРОВАННОГО СПИННОГО МОЗГА КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ

РОМАНОВА Ю.Р., ЛАЙКОВ А.В., САНАТОВА Э.Р., ГАЛИЕВА Л.Р.,
САЛАФУТДИНОВ И.И., МУХАМЕДШИНА Я.О.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
Казань, Россия

Актуальность. В настоящий момент не установлено, какие молекулярные каскады лежат в основе патологических изменений в поврежденном спинном мозге (СМ). В связи с этим проведение протеомного анализа травмированной ткани СМ представляется актуальным для выяснения механизмов внутри и внеклеточных взаимодействий белков, которые определяют ключевые функции нейронов и глии.

Цель исследования – выявить изменения в биосинтезе белков тканью СМ на фоне механического повреждения.

Материалы и методы. Для оценки протеомного профиля белков в травмированной ткани проводили дозированную контузионную травму (ДКТ) СМ крысы (порода Wistar, самцы) на уровне Th8. Через 30 суток после нанесения травмы животных наркотизировали и забирали фрагмент СМ в области повреждения. Аналогичным образом забирали материал от интактных животных той же породы, пола и веса. В исследовании использовали разностный двумерный гель электрофорез (2D DIGE) для разделения белков ткани мозга, отдельные, вариабельные белковые пятна вырезались, трипсинизировались и картировались (peptide mass fingerprinting) с использованием масс-спектрометра ultrafleXtreme MALDI-TOF/TOF (Bruker).

Результаты. Используя 2D DIGE были получены белковые карты интактного СМ и после ДКТ. Было выявлено отсутствие значительных изменений при сравнении 2D белковых карт СМ от интактных животных. При сравнении 2D белковых карт подопытных и интактных животных выявили сверхэкспрессию более 10 белков в СМ после ДКТ. Масс-спектрометрический анализ позволил идентифицировать среди них глиальный фибриллярный кислый белок, альфа-енолазу, виментин, бетта-тубулин, актин и ряд других белков.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют в пользу того факта, что необходимы дальнейшие глубокие исследования молекулярных механизмов, происходящих при нейротравмах. Результаты таких исследований способны открыть новые пути к созданию эффективных методов лечения травматических повреждений ЦНС.



ВЛИЯНИЕ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА ПРОЦЕСС РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА

Розанов В.В., Матвейчук И.В., Литвинов Ю.Ю.,
Николаева А.А.

ФГБНУ ВИЛАР, ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В.Ломоносова, ФБГУ НИМЦ
«Базис» Минобрнауки РФ, Москва, Россия

Актуальность. Применяемые в настоящее время методы стерилизации далеки от совершенства, т.к. в процессе обработки костных фрагментов не исключена возможность снижения их остеоиндуктивных свойств. В этой связи создание и экспериментальная апробация инновационных технологий стерилизации костных имплантатов является одной из актуальных задач современной биоимплантологии. Одним из перспективных подходов к её решению является изучение возможности использования озонной стерилизации.

Цель исследования – экспериментальное исследование преимуществ и недостатков метода стерилизации с использованием озонно-кислородной смеси. Материалом исследования служили цилиндрические образцы компактного вещества бедренных бычьих костей, полученные с использованием полых цилиндрических и отрезных дисковых фрез по авторской технологии. Она обеспечивает высокое качество образуемых поверхностей за счёт выполнения механической обработки с использованием водяного охлаждения. Костные образцы были подвергнуты обработке озонно-кислородной смесью с концентрацией 20 мг/л в течение 20 минут с последующей их упаковкой, герметизацией с использованием устройства F70-400 (Нидерланды) в стерилизованную той же смесью двухслойную термопленку DGMS teriguard и хранением в течение заданного времени. Контролем служили образцы, хранение которых осуществляли без упаковки и с использованием нестерильной тары. Изучение стерильности образцов в зависимости от способов их обработки, условий и длительности хранения осуществляли микробиологическими методами. В результате исследования было установлено, что опытные образцы кости, в отличие от контрольных, соответствовали требованиям испытания на стерильность для грибов и дрожжей, в то время как контрольные показали наличие их роста. В целях оптимизации параметров режима озонной стерилизации костных фрагментов, изучения возможности сочетанного использования озонно-кислородных смесей с физическими методами (к примеру, радиационными воздействиями), представляет интерес проведение дальнейших комплексных исследований этого перспективного метода.



ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИИ ПЛАЦЕНТАРНО/ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ТЯЖЕЛОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС

Рябов С.И., Звягинцева М.А., Смирнов В.А., Гринь А.А.,
Крылов В.В.

РКНПК ИЭК МЗ РФ, Москва, Россия, Москва, Зя Черепковская
15А, тел.+7(495)415-00-35., ГБОУ ВПО МГМСУ МЗ РФ, Москва, Россия,

Актуальность. Клеточная терапия клетками человеческой плацентарно-пуповинной крови (ППК) может быть перспективной при лечении спинномозговой травмы (СМТ), в связи с постоянным ростом численности пострадавших, высоким уровнем смертности и инвалидизации, отсутствием эффективных методов лечения. Цель. Оценка влияния однократной внутривенной и внутри спинальных инъекции клеток человеческой ППК для восстановления двигательной активности конечностей после тяжелой травмы спинного мозга у крыс. Материал и методы. Исследование выполнено на взрослых крысах линии Спрэг-Дули 250–300 гр. Тяжелая контузия была выполнена методом «weight-drop» (10 г/ 25 мм), после ламинэктомии. Экспериментальные группы. Внутривенная инъекция: 1 – травма-самовосстановление, 2 – травмы + ППК в 1-е сутки после травмы, 3 – травма + ППК на 5 день после травмы, 4 – только ламинэктомия, 5 – ламинэктомия + ППК. Инъекция в эпицентра травмы: 1 – инъекции физраствора, 2 – ППК. Противовоспалительных средства, цитостатические агенты не использовались. Мононуклеарный криоконсервированный концентрат человеческой ППК (КриоЦентр, Москва, Россия) в дозе 106 клеток/жив. в 1 мл физраствора вводили в хвостовую вену и 1X106 клеток/жив. в 10 мкл физраствора в эпицентр травмы. Контрольной группе – физраствор. Двигательная активность оценивалась по шкале BBB в функциональном тесте “открытое поле”. Результаты. После травмы во всех группах – параплегия задних конечностей (BBB 0-1). Самовосстановление движений происходит $4,9 \pm 0,6$. При внутривенной инъекции (1 сутки после травмы)- до уровня $7,6 \pm 1,1$, на 5тые $-7,4 \pm 0,4$. При внутри спинальной – $8,38 \pm 0,34$. Во всех группах эффективность однократного введения ППК составила 14-16%. Вывод. Однократное внутривенное или внутри спинальное введение человеческой ППК улучшает восстановление двигательной функции после тяжелой СМТ. Работа поддержана грантом РНФ №14-15-00802.



ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ ОСТРОВКОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА

САПАРБАЕВ С.С., ТАУБАЛДИЕВА Ж.С., ОСПАНОВА А.З.,
КАСЫМОВА Ж.А., КАРТАБАЕВА Г.О.

АО «Национальный научный медицинский центр» Астана, Респу-
блика Казахстан

Актуальность. Сахарный диабет является одним из социально-значимых патологий, поэтому разработка и внедрение новых высокоэффективных методов лечения данной патологии является актуальной проблемой современной медицины.

Цель: Изучить эффективность трансплантации фетальных островковых клеток поджелудочной железы человека у больных сахарным диабетом I типа.

Материалы и методы: Фетальные островковые клетки получены из абортного материала сроком гестации 16-19 недель. Культуру культивировали в среде IMDM («Sigma», США) с добавлением 10% FBS («Hy Clone», США).

Трансплантацию фетальных клеток поджелудочной железы проводили в комплексе со стандартной сахароснижающей терапией в условиях отделения реанимации с помощью аппарата Perfusor compact S B. Braun Melsungen AG. Содержание клеток в 1 мл $4-6 \times 10^9$, разведенные в 10 мл 0,9% NaCl.

Результаты: 15 пациентов до трансплантации фетальных клеток поджелудочной железы имели следующие показатели: гликолизированный гемоглобин $9,52 \pm 1,96$ (%); С-пептид $0,092 \pm 0,013$ (нг/мл); Дозы инсулина $46,60 \pm 6,69$ (ЕД).

У пациентов после трансплантации фетальных клеток поджелудочной железы через 6 месяцев были следующие результаты: гликолизированный гемоглобин $7,84 \pm 1,11$ (%), $P=0,005$; С-пептид $0,202 \pm 0,075$ (нг/мл), $P=0,008$; дозы инсулина $25,20 \pm 11,30$ (ЕД) $P=0,500$. Р-вероятность различий до и после трансплантации.

Выводы: По полученным результатам, трансплантация фетальных клеток поджелудочной железы привело к достоверному увеличению уровня С-пептида у пациентов с сахарным диабетом типа 1 ($p < 0,05$). Улучшение показателей углеводного обмена в виде снижения средних значений тощачковой и постпрандиальной гликемии, средних значений гликолизированного гемоглобина, повышение средних значений С-пептида наряду с уменьшением потребности в экзогенном инсулине свидетельствовало о стимуляции регенерации резервов собственных β -клеток поджелудочной железы.



КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ, ХРЯЩЕВОЙ И СУХОЖИЛЬНОЙ ТКАНЕЙ В ОРТОПЕДО-ТРАВМА- ТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Савинцев А.М.^{1,3}, Малько А.В.¹, Супрун К.С.¹,
Адылов Ш.Ф.², Багаева В.В.², Айзенштадт А.А.³

1 – ГБУЗ «Городская Покровская больница», Санкт-Петербург, Россия

2 – Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия

3 – СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность исследования: Изыскание новых, актуальных путей воздействия на течение регенерации костной, хрящевой и сухожильной тканей является необходимой основой для дальнейшего прогресса наших потенциальных возможностей в лечении повреждений и заболеваний опорно-двигательной системы человека.

Цель исследования – оценить эффективность применения клеточных технологий в качестве дополнительной процедуры (регенеративной терапии) к хирургическому лечению больных с повреждениями и заболеваниями опорно-двигательной системы человека.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением и лечением с 2007 года до настоящего времени находится 42 пациента с различными повреждениями и заболеваниями опорно-двигательной системы. Их характер был следующий: 3 – ложный сустав и длительно не срастающиеся переломы длинных трубчатых костей; 2 – внутрисуставных перелома мыщелка большеберцовой кости со смещением отломков; 2 – закрытых перелома таранной кости; 2 – закрытых оскольчатых перелом диафиза длинных трубчатых костей; 11 – закрытых переломов проксимального отдела бедра; 5 – закрытых подкожных повреждения ахиллова сухожилия; 1 – оптимизация эффективности тотального эндопротезирования тазобедренного сустава; 1 – дефект мягких тканей; 14 – гонартрозы; 1 – коксартроз; 1 – хронический бурсит (пяточный). Мужчин было 17, женщин – 25. Возраст больных варьировал от 21 до 90 лет.

Среди причин травм можно отметить следующие: высоэнергетичная травма (3): ДТП – 1, катастрофа (падение с высоты) – 2; падение на горизонтальной плоскости (с высоты роста) – 17; перенапряжение мышц голени – 5; дегенеративные поражения суставов – 15.

Результаты. Нами были предприняты попытки оптимизации процессов сращения при переломах костей, повреждениях ахиллова сухожилия и восстановления суставной поверхности при дегенеративно-дистрофических повреждениях посредством применения клеточных технологий. Во всех случаях были получены положительные результаты, заключающиеся в гарантированном сращении переломов и сухожилий в минимальные для данной локализации сроки и значительные клинические улучшения при остеoarтрозах крупных суставов, что, по нашему мнению, обусловлено местным оптимизирующим воздействием введенного клеточного материала.

Процесс репаративной регенерации костной и хрящевой тканей оценивали в динамике по результатам рентгенологического обследования и МРТ.

Выводы. Результаты клинического применения клеточных технологий свидетельствуют о том, что при трансплантации клеточного материала в место перелома он обладает



выраженным остеоиндуцирующим и оптимизирующим действием на течение процессов репаративной регенерации кости и ткани сухожилия, и может быть использован в клинической практике в качестве дополнительной процедуры к хирургическому лечению больных с повреждениями опорно-двигательной системы, позволяя повысить эффективность основного способа лечения и сократить сроки реабилитации больных после травмы.

При применении клеточной терапии у пациентов с остеоартрозом крупных суставов были получены обнадеживающие клинические результаты, требующие дальнейшего тщательного анализа и изучения.

НОВЫЙ СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В ЗОНЕ ПЕРЕЛОМА КОСТЕЙ ПРИ ОСТЕОПОРОЗЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ СИНТЕТИ- ЧЕСКИМ БИСФОСФОНАТНЫМ ОСТЕОТРОПНЫМ ПОЛИМЕРОМ

САФАРОВА Ю.И.¹, ОЛЖАЕВ Ф.С.¹, ИДРИСОВА Д.Ш.¹, УМБАЕВ Б.А.¹,
МУРАТА Х.², РАССЕЛ А.², АСКАРОВА Ш.Н.¹

1 – ЧУ «National Laboratory Astana» АО «Назарбаев Университет»,
г. Астана, Казахстан

2 – Institute for complex engineering systems, Carnegie Mellon
University, Pittsburgh, USA

Актуальность: Остеопороз занимает четвертое место в мире в структуре заболеваний, наряду с сердечно-сосудистыми, онкологическими заболеваниями и сахарным диабетом. Каждые 3 секунды в мире возникает остеопороз-ассоциированный перелом (ОАП), что составляет более 8,9 млн. переломов ежегодно. В настоящее время в мировой практике при лечении костных повреждений используются различные остеогенные материалы, но ни один из них не в состоянии обеспечить высокую эффективность проводимой терапии при ОАП. Таким образом, разработка альтернативных, клинически применимых методов терапии последствий остеопороз-ассоциированных и других патологических переломов костей является весьма актуальной.

Цель: Целью данной работы явилась исследование эффективности нового способа стимулирования регенерации ОАП с помощью клеточной терапии мезенхимальными стволовыми клетками (МСК), модифицированными синтетическим остеотропным бисфосфонатным полимером на основе N-акрилоил-6-аминогексановой кислоты N'-оксисукцинимид эфира. В связи с тем, что бисфосфонаты имеют высокую степень сродства к гидроксиапатитам, составляющим почти 2/3 сухой массы кости, данный синтетический полимер, ковалентно связанный с мембранами МСК, способен осуществлять тканеспецифическую доставку клеток в очаги поражения костной ткани, и таким образом,



локализовать процессы клеточной репарации.

Материал и методы: Работа выполнена на 20 беспородных белых крысах-самках массой 250 ± 20 г., разделенных на 4 группы. Для оценки регенеративного потенциала предлагаемого способа стимуляции остеогенеза была создана *in vivo* модель перелома локтевой кости у крыс с остеотомией диафиза локтевой кости на фоне экспериментально-индуцированного эстроген-зависимого остеопороза. Лабораторным животным локально в зону перелома один раз в неделю вводилась суспензия МСК (1×10^6 клеток/мл), модифицированных синтетическим остеотропным полимером; в качестве контроля второй и третьей группе животных вводили либо МСК, либо полимер, в то время как четвертая группа не получала никакого лечения. Для оценки динамики формирования костной мозоли на протяжении четырех недель выполнялся мониторинг плотности костной ткани в местах перелома с помощью микроКТ IVIS Spectrum CT (Caliper, USA). Данные были представлены в виде соотношения финальной плотности костной ткани (4 недели) к начальной (на момент перелома).

Результаты: Было показано, что через четыре недели после проведения процедуры остеотомии плотность костной ткани в зоне перелома у животных, получавших терапию модифицированными МСК увеличилась на 34 % по сравнению с контрольными группами ($p=0.006$). Данные были подтверждены при гистоморфологическом исследовании *post mortem*. На гистологических срезах отчетливо просматривается образование молодой костной ткани, сформированной из незрелых клеток.

Выводы: Клеточная терапия МСК, модифицированными бисфосфонатным остеотропным полимером, является эффективным подходом для стимулирования процессов регенерации костной ткани при остеопорозе и схожих патологиях.

ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ВУЛЬВЫ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ «ALLOPLANTR СТИМУЛЯТОР РЕГЕНЕРАЦИИ»

Сахаутдинова И.В., Муслимова С.Ю., Симакова Е.Л.

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа,
Россия

С целью коррекции дегенеративно-дистрофических нарушений в тканях вульвы при хроническом дистрофическом процессе нами была разработана и внедрена методика обкалывания пораженных участков аллогенным биоматериалом «Alloplant® стимулятор регенерации». Цель исследования – изучить динамику морфологических изменений в тканях вульвы при хронической дистрофии после введения аллогенного биоматериала. Материалы и методы. Проведено исследование 69 биоптатов тканей вульвы, пораженных дистрофическим процессом до лечения и спустя 30 и 90 дней после введения «Alloplant® стимулятор регенерации». Результаты и обсуждение. При гистологическом исследовании биоптатов вульвы, пораженных лейкоплакией, во всех случаях выявлены морфологические изменения как в эпидермисе, так и в дерме. Обнаруживалась очаговая



дисплазия эпидермиса. В наружных слоях многослойного плоского ороговевающего эпителия определялся гиперкератоз и паракератоз. Выявлялась усиленная пролиферация камбиального слоя, граничащего с базальной мембраной. Базальная мембрана, граничащая с сосочковым слоем дермы, с трудом определялась на микроскопическом уровне. Через 1 месяц после введения аллогенного биоматериала «Alloplant® стимулятор регенерации» в дерме в очагах склероза отмечалось увеличение клеточной плотности за счет клеток соединительной ткани – макрофагов и фибробластов. Преобладали полиморфные макрофаги и малодифференцированные клетки. Коллагеновые волокна принимали упорядоченную волокнистую структуру. Через 3 месяца после обкалывания восстанавливалась общая архитектура и структура клеток многослойного плоского эпителия. Явления гипер- и паракератоза не обнаруживались. Эпителиальные клетки базального слоя были упорядочены и располагались в один слой. К ним плотно прилегала плотная базальная мембрана с четкими контурами. Выводы. После обкалывания аллогенным биоматериалом «Alloplant® стимулятор регенерации» в тканях вульвы, пораженных хроническим дистрофическим процессом наблюдается восстановление архитектуры клеток эпидермиса, восстановление структуры и свойств коллагеновых волокон и соединительнотканной стромы.

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК В РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ

Сазонов С.В., Коротких А.Г.

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Актуальность. Травматические повреждения нервов и спинного мозга составляет 11,4–11,8 на 100 тысяч населения в год. Показана биологическая совместимость углеродных нанотрубок с нервной тканью, а так же установлена возможность при их использовании в клеточных культурах моделировать адгезию и пролиферацию нейронов. Цель работы – изучить влияние одностенных углеродных нанотрубок на процесс регенерации миелиновых нервных волокон седалищного нерва в экспериментальной модели *in vivo*. Материалы и методы. Травму нерва осуществляли в модели на лабораторных кроликах. Всего прооперировано 32 животных, возраст кроликов 7–8 месяцев (половозрелые), самцы. Выделяли пучок седалищного нерва, между концами пересеченного нерва накладывали конduit, содержащий углеродные нанотрубки (SWNT, Sigma-Aldrich, Германия). Коллатеральная (левая) конечность служила в качестве контрольной. Через три месяца животных выводили из эксперимента. Морфометрические измерения на гистологических срезах проводили при помощи программы CellSens Standart (Olympus, Япония). Результаты. При гистологическом исследовании дистальных отделов седалищного нерва очаги запустевания на месте миелиновых нервных волокон не обнаружены. Средний диаметр



миелиновых нервных волокон в дистальном участке составляет в контрольной конечности $21,16 \pm 0,41$ мкм, в опытной конечности $36,62 \pm 1,71$ мкм ($p < 0,01$). Выводы. Одностенные углеродные нанотрубки оказывают положительное влияние на процесс регенерации периферических нервных волокон. Конечность, при операции на которой между концами пересеченного нерва накладывали кондуит с SWNT, через 3 мес. после операции лучше функционирует, мышцы по сравнению с контролем, имеют более высокий тонус.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОДТИПАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Леонтьев С.Л.

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Екатеринбург, Россия
ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия

Актуальность. В каждой опухоли присутствует лишь очень небольшая доля опухолевых стволовых клеток (ОСК), способных индуцировать опухоли человека. При введении иммунодефицитным мышам опухолевые стволовые клетки имеют определенные поверхностные маркеры, что позволяет выделять их из общей массы опухолевых клеток с помощью проточной цитофлуориметрии или с помощью различных вариантов иммуногистохимии.

Цель работы – показать возможность идентификации, наличия различий в количестве и локализации опухолевых стволовых клеток при иммуногистохимических подтипах рака молочной железы.

Материалы и методы. Иммуногистохимические исследования проводились с использованием автоматических систем окрашивания Ventana (США) и DAKO (Дания). В связи с гетерогенностью рака молочной железы проводилось распределение всех отобранных случаев по подтипам, основанное на иммуногистохимическом определении рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR), эпидермального фактора роста 2 (HER-2/неу) и маркера клеточной пролиферации (Ki-67), определяли долю опухолевых клеток, экспрессирующих CD44+ CD24-/low ESA+.

Результаты. Ранее методом иммунофенотипирования было показано, что при миелолейкозе у человека лишь небольшая часть клеток обладает свойствами ОСК. Эти клетки были охарактеризованы по поверхностным антигенам как CD34+/CD38-. В общей популяции опухолевых клеток доля клеток с таким фенотипом составляла лишь 0,1%. При использовании метода иммуногистохимии при раке молочной железы показано существование опухолевых стволовых клеток с подобным фенотипом – CD44+, CD24-/low, ESA. Кроме того, изучался цитокератиновый спектр в клетках для определения направления дифференцировки опухолевых стволовых клеток в основную массу клеток опухоли.



ПЕРВЫЙ ОПЫТ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ КОМПОЗИЦИОННЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИД-ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ, ПОЛУЧЕННЫХ ПУТЕМ 3D-ПРИНТИНГА И ПРЕДНА- ЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНО- ХРЯЩЕВЫХ ДЕФЕКТОВ

СЕРГЕЕВА Н.С.¹, СВИРИДОВА И.К.¹, КИРСАНОВА В.А.¹,
АХМЕДОВА С.А.¹, КУВШИНОВА Е.А.¹, ШАНСКИЙ Я.Д.¹,
КОМЛЕВ В.С.², БАРИНОВ С.М.², ФЕДОТОВ А.Ю.², ТЕТЕРИНА А.Ю.²,
ЗОБКОВ Ю.В.², ЕГОРОВ А.А.²

1 – МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава
России, Москва, Россия;

2 – ФГБУН ИМЕТ им. А.А. Байкова РАН, Москва, Россия

Актуальность. Разработка композиционных материалов, пригодных для 3D-принтинга индивидуальных имплантатов, предназначенных для замещения костно-хрящевых дефектов различного объема и формы, – актуальная задача современного биоматериаловедения.

Цель. Экспериментальное исследование цитосовместимости, матриксных свойств поверхности, биосовместимости трехмерных композиционных конструкций (ТКК) составов альгинат натрия (АН)/фосфаты кальция, полученных методом 3D-принтинга.

Материалы и методы. Исследованы ТКК составов АН/трикальцийфосфат (ТКФ), АН/карбонатзамещенный гидроксиапатит (КГА), АН/желатин/ТКФ и АН/октакальцийфосфат (ОКФ) *in vitro* на иммортализованных фибробластах человека (ФЧ) и клетках остеосаркомы человека MG-63. Жизнеспособность клеток на образцах ТКК оценивали с помощью МТТ-теста. Биосовместимость образцов ТКК исследовали на модели подкожной имплантации мышам.

Результаты. Полученные данные свидетельствуют о цито-/биосовместимости образцов ТКК всех четырех составов. По скорости биодеградации кальцийфосфатного компонента образцы ТКК образуют следующую последовательность: АН/ОКФ > АН/ТКФ > АН/КГА.

Выводы. Исследованные образцы ТКК представляются перспективными для дальнейшего изучения их остеозамещающих свойств.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (Соглашение № 14.604.21.0132)



ВЛИЯНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА [C60] НА ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

СЕРГЕЕВА В.А., КАМЕНЕВА Л.В., ЕРШОВА Е.С., ВЕЙКО Н.Н.,
Костюк С.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Медико-генетический научный центр», Россия

В настоящее время все большее внимание уделяется применению наноматериалов в медицине и технике. Одним из таких наноматериалов являются фуллерены, о влиянии которых на организм пока известно очень мало. В литературе было показано, что [C60] фуллерены и их производные обладают антиоксидантными свойствами, противовирусной активностью, противораковым действием и могут быть использованы как векторы для доставки лекарств в клетку. Однако необходимо дальнейшее исследование влияния этих соединений на клетки человека.

Цель: Исследовать влияние трех водорастворимых производных фуллерена [C60] с различными заместителями (N-метилпиперазиновыми, фосфоновокислотными и 3-фенилпропионильными) на мезенхимные стволовые клетки человека.

Материалы и методы: Мезенхимные стволовые клетки были получены из жировой ткани операционного материала больных с аденокарциномой молочной железы. РНК выделяли с использованием наборов RNeasy Mini kit (Qiagen, Германия), кДНК получали с помощью набора для обратной транскрипции (Sileks, Россия). Уровень экспрессии генов определяли методом ПЦР в реальном времени с GAPDH и TBP в качестве генов внутреннего стандарта.

Результаты: При культивировании МСК в присутствии водорастворимого производного фуллерена [C60] с фосфоновокислотными заместителями в концентрации 195 мкМ в течение двух недель происходила дифференцировка по миогенному пути: уровень генов миогенной дифференцировки *Myod*, *Myog*, *Myf5* возрастает в 2-8 раз. Эти данные подтверждаются возрастанием уровня соответствующих белков в МСК (в 2-6 раз), определяемого методом флуоресцентной микроскопии и цитофлуориметрии с использованием антител к миогенину, *myf5* и *myf6*, конъюгированных с флуорохромом. Увеличение уровня экспрессии маркеров миогенной дифференцировки коррелирует с возрастанием уровня экспрессии маркеров аутофагии LC3 и Beclin1. Увеличения экспрессии генов адипогенной и остеогенной дифференцировки при воздействии на МСК водорастворимого производного фуллерена [C60] с фосфоновокислотными заместителями не наблюдалось, при этом окрашивание МСК щелочной фосфатазой и масляным красным О не выявило различий с контролем. Водорастворимые производные фуллерена [C60] с N-метилпиперазиновыми и 3-фенилпропионильными функциональными группами не вызывали подобного увеличения экспрессии генов миогенной дифференцировки.

Выводы: Производное фуллерена [C60] с фосфоновокислотными функциональными группами вызывает миогенную дифференцировку МСК, в то время как производные с N-метилпиперазиновыми и 3-фенилпропионильными функциональными группами к подобному эффекту не приводят.



МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРВНОЙ ТКАНИ С УЧАСТИЕМ УРОКИНАЗЫ И УРОКИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА

Семина Е.В., Рысенкова К.Д., Климович П.С., Рубина К.А.,
Сысоева В.Ю., Ткачук В.А.

Факультет фундаментальной медицины, ФГБОУ МГУ им. М.В. Ломо-
носова. Москва, Россия

Урокиназная система (УС) состоит из урокиназы (uPA), её рецептора uPAR и ингибиторов урокиназы. Помимо хорошо описанного участия УС в росте и ремоделировании сосудов, существуют также данные о том, что УС вовлечена в регенерацию нервной ткани. Мыши, дефицитные по генам uPA и uPAR демонстрируют спонтанное возникновение эпилептических судорог и сниженную скорость восстановления периферических нервов после их повреждений по сравнению с животными дикого типа. В данной работе на модели трёхмерной эксплантной культуры спинальных ганглий (СГ) мыши в Матригеле изучали влияние УС на рост и ветвление аксонов и миграцию нервных клеток – процессов, отражающих регенерацию нервной ткани. Мышинные ганглии выделяли в асептических условиях, помещая их далее в каплю Матригеля. При этом изучали эффект экзогенно введённой урокиназы (uPA, 10 нг/мл), а также блокирование uPAR на рост и ветвление аксонов и миграцию нервных клеток из эксплантов в Матригель. Аксоны визуализировали с помощью антител к нейрофиламентам NF200, ядра окрашивали DAPI. Изображения получали с помощью конфокального сканирующего микроскопа (микроскоп Leica TCS SP5). Было обнаружено стимулирующее влияние uPA на миграцию нервных клеток и рост аксонов из СГ в Матригель: uPA стимулирует удлинение аксонов в 1,5 раза ($p < 0.05$) и активирует спонтанную клеточную миграцию в 2 раза по сравнению с контролем ($p < 0.05$). При этом блокирование uPAR в 2,5 раза ($p < 0.05$) снижает миграцию нервных клеток из эксплантов СГ в Матригель и усиливает ветвление аксонов по сравнению с контролем. Одновременное введение в Матригель специфического ингибитора uPA и блокирование uPAR практически полностью подавляет миграцию нервных клеток и замедляет рост аксонов. На основании полученных результатов нами сделан вывод о том, что УС участвует в процессах роста и ветвления аксонов и миграции нервных клеток – процессах, активируемых при регенерации нервной ткани. Работа выполнена за счёт гранта РНФ (проект №14-24-00086) с использованием оборудования, приобретённого за счёт средств Программы развития МГУ.



ВЛИЯНИЕ КОЛЛАГЕНОВОГО МАТРИКСА НА МОРФОЛОГИЮ ПЕРВИЧНЫХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ МЫШИ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК РОГОВИЦЫ КРОЛИКА

Сивогринов Д.Е.¹, Осидак Е.О.¹, Домогатский С.П.^{1,2}

1000 фирмы «Имтек», Москва, Россия; 2ФГБУ «РКНПК» Министер-
ства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Актуальность. Тканевая инженерия предполагает выращивание клеток в трехмерном (3D) матриксе. Несмотря на разнообразие полимерных матриксов, наилучшие результаты с перспективой для дальнейшей имплантации в живой организм были получены с использованием матриксов на основе нативного коллагена.

Цель. Воспроизвести в 3D культуре естественное поведение эмбриональных фибробластов мыши (MEF), а также эндотелиальных клеток роговицы кролика (SEC) на мембране, используя искусственные матриксы на основе коллагена I типа.

Материалы и методы. Клетки MEF культивировали внутри стерильных, прозрачных 3D гелей, приготовленных из А) нативного свиного коллагена (P C11-ND) и Б) нативного свиного коллагена, экстрагированного из обработанных пепсином тканей (P C11-AD). Для культивирования клеток SEC, используя те же коллагены, были приготовлены коллагеновые мембраны с иммобилизованным коллагеном человека IV типа (H C44-C), которые по структуре и составу соответствовали базальной мембране.

Результаты. Клетки MEF при культивировании в 3D геле, приготовленном из препарата А, имеют растянутую морфологию и активно размножаются в геле, contracting его. Однако в геле, приготовленном из препарата Б, фибробласты имеют компактную морфологию и размножаются медленнее после продолжительного лаг-периода. Клетки SEC при культивировании на мембране, приготовленной из препарата А, модифицированной коллагеном человека IV типа размножаются с умеренной скоростью, и при этом имеют характерную морфологию брусчатки. Напротив на мембране из препарата Б клетки SEC практически не размножаются.

Выводы. Матрикс на основе нативного коллагена позволяет воспроизводить естественное поведение клеток в обоих случаях. Напротив, на матриксе приготовленном из «пепсинизированного» коллагена, не удастся сохранить естественную морфологию и поведение клеток.



НАПРАВЛЕННА РЕГЕНЕРАЦИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ РТА ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ОПЕРАЦИИ – ПЛАСТИКА ОРО-АНТРАЛЬНОГО СОУСТЬЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТРОМБОЦИТАРНОЙ АУТОПЛАЗМЫ (ТАП)

Сипкин А.М., Никитин А.А., Модина Т.Н., Юдин Д.К.

ГБУЗ МО «МОНИКИ им.М.Ф.Владимирского», Москва, Россия

Верхнечелюстной синусит, достаточно распространенное и, нередко, рецидивирующее заболевание, которое при одонтогенном происхождении часто сопровождается образованием оро-антрального соустья. Хирургическое лечение данной патологии должно быть направлено не только на изоляцию полости рта от верхнечелюстной пазухи, но и на сохранение анатомии переходной складки, твердого неба, объема прикрепленной десны, пародонта в области зубов, включающих дефект, и наконец, создания оптимальных условий для имплантации и протезирования. К сожалению, при традиционных методах пластики оро-антрального соустья не всегда возможно достичь желаемых результатов. Поэтому целью нашей работы являлась разработка хирургических методов, позволяющих максимально решать вышеперечисленные задачи в рамках выполнения одной операции.

Материал и методы: все пациенты были распределены на две группы по методам хирургического лечения. В первой группе (16 человек) применялась пластика оро-антрального соустья с остеотомией вестибулярной костной пластинки без нарушения целостности слизистой оболочки верхнечелюстного синуса. Во второй (41 человек) – пластика оро – антрального соустья свободным трансплантатом слизистой оболочки из области твердого неба. С целью оптимизации процессов регенерации и поддержания жизнеспособности лоскута, во время операции применялась тромбоцитарная аутоплазма (ТАП), полученной методом центрифугирования из крови пациентов.

Результаты: После проведения предложенных хирургических методов не было отмечено рецидивов оро-антрального соустья. В первой группе в результате оперативного вмешательства больным был устранен не только дефект слизистой оболочки, но и восстановлен объем костной ткани. Поэтому через 8 месяцев была проведена дентальная имплантация и восстановление зубного ряда верхней челюсти несъемными конструкциями без предварительной операции синуслифтинг. Во второй группе пациентов восстановление зубных рядов проводилось без дополнительных хирургических вмешательств – пластики преддверия полости рта и прикрепленной десны.

Выводы: Применение разработанных методов позволяет не только исключить вероятность рецидива заболевания, но и без проведения дополнительных этапов реконструктивной хирургии, создать оптимальные условия для реабилитации пациентов методом дентальной имплантации в области зоны протезирования. А использование ТАП способствует уменьшению таких послеоперационных явлений, таких как отек, гиперемия лоскута, качество срастания лоскута и окружающих тканей, заживление донорского ложа.



ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕН- ХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ГОЛОВНОЙ МОЗГ НА ФОНЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Силачёв Д.Н.^{1,2}, Плотников Е.Ю.^{1,2}, Бабенко В.А.^{1,2},
Данилина Т.И.², Зорова Л.Д.^{1,2}, Певзнер И.Б.^{1,2},
Зоров Д.Б.^{1,2}, Сухих Г.Т.²

1 – ФГБУ НЦАГиП им. Кулакова, Москва, Россия, ул. Академика Опариной, 4.

2 – МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, ул. Ленинские горы, 1. стр. 40

Актуальность. Клеточные технологии на основе использования мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток (ММСК) находят в последнее время все большее применение для лечения патологических состояний головного мозга. Внутривенное введение (в/в) клеток является клинически наиболее предпочтительным, но доставка клеток в мозг в этом случае ограничена из-за задержки клеток фильтрующими органами. Внутриаартериальное введение (в/а) в сонные артерии может обеспечивать прямую доставку клеток в головной мозг, минуя первый пассаж через паренхиматозные органы. Целью данного исследования являлось сравнение эффективности доставки ММСК в мозг при в/в и в/а введении, а также анализ эффективности терапевтического действия ММСК на модели экспериментальной черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

Материалы и методы. У самцов крыс моделировали открытую ЧМТ в области сенсомоторной коры, объем повреждения оценивали с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ), неврологический статус оценивали с помощью поведенческих тестов. Клетки трансплантировали в/в или в/а, миграцию в головной мозг оценивали несколькими методами: с помощью конфокальной микроскопии и методом измерения флуоресценции флуорохрома Calcein в гомогенате мозга.

Результаты и выводы. Анализ терапевтического действия ММСК при ЧМТ выявил улучшение неврологического статуса и моторных функций поврежденного полушария при трансплантации ММСК, причем, внутриаартериальное введение приводило к более выраженному положительному эффекту. Внутриаартериальная инфузия ММСК приводила к быстрой инфильтрации ММСК в ткань поврежденного полушария, а их количество значительно превышало число клеток, выявляемых при внутривенном введении. Таким образом, направленная доставка ММСК в мозг с помощью внутриаартериального введения в каротидные артерии, значительно повышает нейропротекторные эффекты ММСК при травме головного мозга. Работа поддержана грантом РНФ 14-15-00107.



ПРОТЕЗЫ СОСУДОВ МАЛОГО ДИАМЕТРА, ИЗГОТОВЛЕННЫЕ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОСПИН- НИНГА: МОДИФИКАЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИ- МОСТИ IN VITRO И IN VIVO

СТЕПАНОВА А.О.^{1,2}, ПОПОВА И.В.², ЧЕРНОСОВА В.С.^{1,2},
КОРОБЕЙНИКОВ М.В.³, КАРПЕНКО А.А.¹, ПОКУШАЛОВ Е.А.¹,
ВЛАСОВ В.В.², ЛАКТИОНОВ П.П.^{1,2}

1 – Институт патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина;

2 – Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

3 – Институт Ядерной физики СО РАН, Новосибирск, Россия

Актуальность. Протезирование сосудов жизненно необходимо при реконструкции коронарного кровообращения и сахарном диабете, зачастую приводящему к облитерирующему атеросклерозу сосудов нижних конечностей. Склонность ксено- алло- и аутографтов к формированию аневризм и протезов из синтетических материалов к индукции неинтимы и стенозам требуют создания нового поколения протезов сосудов.

Материалы и методы. Трехмерные матриксы или протезы сосудов, в том числе с малопроницаемым внутренним слоем были изготовлены методом электроспиннинга из растворов поликапролактона, сополимера молочной и гликолевой кислот и их смесей с желатином в гексафторизопропанол. Прочность и структура матриксов были исследованы при помощи сканирующей электронной микрокопии, рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, разрывной машины Zwick/Roell Z100. Эндотелиальные клетки из пупочной вены человека и человеческие фибробласты были использованы для тестирования биосовместимости матриксов in vitro. Протезы сосудов трех типов были имплантированы в 45 крыс линии Wistar и исследованы методом магнитно-резонансной томографии, двойного УЗИ-сканирования, и, после эксплантации при помощи обзорной микроскопии и гистологического исследования.

Результаты. Введение желатина повышает прочность матриксов, как и их биосовместимость. Формирование полупроницаемого слоя позволяет модулировать проницаемость в пределах 20–0,03 мл. Прижизненное исследование имплантированных протезов сосудов, и их исследование после эксплантации демонстрируют, что сосуды с малопроницаемым внутренним слоем менее склонны к формированию неинтимы и изменению размеров.

Выводы. Протезы из поликапролактона с желатином и малопроницаемым внутренним слоем могут быть рекомендованы для практического применения.



ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО РАКА ЯИЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Соболев И.В.¹, Глушаков Р.И.², Прошин С.Н.³,
Тапильская Н.И.³

1 – ГУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург», Ленинградское шоссе, 68А, тел. +7(911)165-21-24, sobol548@inbox.ru;

2 – Военно-медицинская академия им.С.М.Кирова, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6;

3 – Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2.

Модулирование процессов ангиогенеза является актуальным вопросом как регенеративной медицины, так и экспериментальной, и клинической онкологии. Негеномные эффекты тиреоидных гормонов, заключающиеся в воздействии на интегринавый рецептор клеточной мембраны и проводящие к последующей активации фосфотидил-инозитол-3-киназы, митоген-активируемой протеин-киназы и серин-треониновой киназы, что приводит к усилению ангиогенеза и клеточной пролиферации.

Цель исследования. В эксперименте установить влияние тиреоидного статуса на экспрессию факторов ангиогенеза в опухолевой ткани на модели перевиваемого рака яичника.

Материал и методы. Экспериментальное исследование проведено на 96 половозрелых лабораторных самках белых беспородных крыс (возраст 7-8 недель, масса 200–250 г) с перевитыми клетками рака яичника. Работа проведена в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 18.03.1986г., 15.06.2006г.) и одобрена локальным этическим комитетом. Лабораторные животные были рандомизированно распределены на 3 равные группы: 1 группа получала L-тироксин в дозе 200 мкг/100 г 1 раз в сутки, 2 группа получала пропилтиоурацил в дозе 2,5 мг/100 г 1 раза в сутки, 3 группа служила контролем. Субстанции вводилась внутривентрикулярно через атравматичный полипропиленовый зонд ежедневно, начиная за 3 дня до инокуляции опухолевых клеток. Культуру опухолевых клеток рака яичника разводили в стерильном растворе Хенкса до концентрации $3,5 \times 10^6$ клеток в 0,1 мл, далее вводили крысам внутривентрикулярно в стерильном физиологическом растворе. Для оценки течения опухолевого процесса оценивались средняя продолжительность жизни, процент увеличения продолжительности жизни и медиана продолжительности жизни лабораторных животных. Экспрессия маркеров ангиогенеза VEGF и bFGF, COX2 в опухолевой ткани аутопсийного материала определялась с помощью соответствующих антител у выбранных случайным образом 36 лабораторных животных (по 12 из каждой группы). Определение



уровней экспрессии искомым антигенов осуществлялось по удельному весу клеток, позитивных в иммуногистохимической реакции. Статистический анализ показателей выживаемости проводили с использованием критерия Лиллиефорса, обработку результатов иммуногистохимического исследования – по t-критерию Стьюдента.

Результаты. Средняя продолжительность жизни лабораторных животных составила $7,3 \pm 2,4$, $19,7 \pm 2,7$ и $9,2 \pm 1,1$ дней для 1 (гипертиреоидной), 2 (гипотиреоидной) и контрольной группы соответственно, что соответствовало уменьшению продолжительности жизни на (-20,7%) и увеличению на (+114,3%) для индуцированного гипер- и гипотиреоза соответственно ($p < 0,05$ для гипотиреоидной группы). VEGF экспрессировался во всех образцах ткани опухоли, уровни экспрессии маркера ангиогенеза составили $98,1 \pm 1,1\%$, $76,4 \pm 5,7\%$ и $93,2 \pm 3,9\%$ для гипер-, гипо- и контрольной групп соответственно (достоверное снижение уровней экспрессии для гипотиреоидной группы, $p < 0,05$), bFGF экспрессировался в гистологическом материале 12 (100%), 4 (33,3%) и 7 (58,3%), COX2 – 12 (100%), 3 (25,3%) и 5 (41,7%) лабораторных животных гипер-, гипо- и контрольной групп соответственно, однако разница в уровнях экспрессии bFGF и COX2 не позволяет выполнить количественное сравнение уровней экспрессии на данной выборке.

Заключение. Таким образом, медикаментозно индуцированный гипотиреоз тяжелой степени у лабораторных животных с перевиваемым раком яичника приводит к статистически достоверному снижению уровня экспрессии VEGF, что в эксперименте проявлялось торможением роста опухоли.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С ЛИМФОЦИТАМИ

СВИРЩЕВСКАЯ Е.В.¹, РОМАНОВ Ю.А.², ВОЛГИНА Н.Е.³,
БАЛАШОВА Е.Е.², ПОЛТАВЦЕВА Р.А.³

1 – Институт биоорганической химии РАН, Москва

2 – ООО «КриоЦентр», Москва, ул. Академика Опарина, 4, Россия.

3 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Москва, ул. Академика Опарина, 4, Россия.

Актуальность. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) представляют собой популяцию стромальных клеток, способных к самовозобновлению и дифференцировке в различные типы тканей. МСК доступны для получения из различных тканей, их несложно поддерживать в культуре, что делает МСК предпочтительным кандидатом для клинического применения в регенеративной медицине. МСК обладают сниженной иммуногенностью, однако экспрессируют ряд молекул ГКГС, которые могут распознаваться аутологичными лимфоцитами периферической крови (ЛПК).

Целью данной работы был анализ взаимодействия МСК, полученных из Вартонова студня, с ЛПК доноров.

Материалы и методы. В работе использовали 4 культуры МСК, которые рассеивали в разной концентрации на планшеты и добавляли равное количество аутологичных ЛПК



4 доноров. После 72 ч инкубации клетки снимали трипсином и подсчитывали на камере Горяева количество живых МСК и ЛПК.

Результаты. Показали, что чем больше добавлено МСК, тем больше иммунная реакция (Таблица). Так при соотношении ЛПК/МСК >9 наблюдается стимуляция пролиферации МСК, а при соотношении <9 – остается 30-50% МСК. Количество ЛПК увеличивалось при увеличении доли МСК в культуре.

	Контроль Доля МСК (72 ч инкубации)					Контроль Доля ЛПК (72 ч)				
	МСК, млн	D1	D2	D3	D4	ЛПК, млн	D1	D2	D3	D4
МСК1	0.30	1.2	1.5	1.2	1.1	4	0.8	0.3	0.6	0.5
МСК2	0.44	0.7	0.8	0.8	1.1	4	1.6	0.5	1.0	0.5
МСК3	0.60	0.2	0.2	0.4	0.2	4	1.1	0.3	1.5	0.3
МСК4	0.68	0.2	0.3	0.3	0.3	4	1.2	0.7	1.6	0.4

Выводы. Имеется дозовая зависимость при взаимодействии МСК с ЛПК. Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 14-25-00179).

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ЛЕЧЕНИЯ РУБЦОВЫХ ПОРАЖЕНИЙ ГОЛОСОВЫХ СКЛАДОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КОСТНОМОЗГОВЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК

ПРОФ. д.м.н. СВИСТУШКИН В.М., ПРОФ. д.м.н.
СТАРОСТИНА С.В., к.м.н. ЛЮНДУП А.В., ДЕДОВА М.Г.,
БУДЕЙКИНА Л.С., СВИСТУШКИН М.В.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России,
Москва, Россия 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

Рубцовые поражения голосовых складок (ГС), являются самой частой причиной стойкого расстройства дыхательной и голосовой функций. Эффективность существующих методов воздействия крайне низкая, так как ни один из известных способов не обеспечивает восстановление уникальной микроструктуры собственной пластинки слизистой оболочки ГС, которая является важнейшей составляющей в образовании голоса. Разработка и внедрение в практику новой технологии лечения с использованием мезенхимальных стволовых клеток (МСК) позволило бы вывести фонохирургию на принципиально новый уровень.

Целью данной работы является изучить потенциал МСК в восстановлении реологических и морфологических характеристик поврежденных ГС, оценить безопасность применения МСК в лечении рубцовых поражений ГС, разработать новый способ лечения больных со стойкой дисфонией вследствие рубцовых повреждений ГС различной этиологии.

Первый этап работы заключается в проведении экспериментального исследования с использованием ГС кролика в качестве модели. Животным в дефект ГС после иссечения



рубцовой ткани, будут имплантированы аутологичные МСК из костного мозга с последующей оценкой гистологических, иммуногистохимических и реологических свойств ГС. Результат экспериментальных исследований позволит обосновать возможность применения данной хирургической технологии в клинической практике. Второй этап работ – клиническое исследование: проведение первых операций у больных рубцовыми поражениями ГС с объективизацией и оценкой ближайших и отдаленных результатов.

Предполагаемым итогом нашей работы является создание новой технологии хирургического лечения больных рубцовыми поражениями ГС, которая устраняет причину дисфонии при рубцах ГС, приводит к существенному улучшению анатомических и физиологических параметров ГС, как следствие – функциональному восстановлению голосового аппарата и реабилитации больного.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ NO-ТЕРАПИЯ ПРИ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ

СОЛОВЬЕВА А.Г., БЕЛЯЕВА К.Л.

ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Ожоги являются одной из самых распространенных в мире поражений. Поэтому поиск путей коррекции метаболических нарушений при ожогах является актуальным. В настоящее время огромный интерес к оксиду азота (NO) связан с возможностью использования его в качестве терапевтического агента. Ингаляции NO улучшают артериальную оксигенацию, ускоряют заживление ран и восстановление после хирургических операций, защищают печень и эффективно укрепляют иммунную систему. Целью работы явилось исследование влияния NO на про- и антиоксидантные системы крови животных с комбинированной термической травмой (КТТ). Материал и методы. Эксперимент проведен на крысах линии Wistar. Животных разделили на группы: 1 – интактная (здоровые крысы, n=8); 2 – контрольная (КТТ, n=8); 3 – опытная (животные с КТТ, которые ежедневно в течение 10 дней ингалировались NO (5 мин., 20 ppm) от генератора NO (РФЯЦ, Саров), n=8). Эвтаназию проводили на 10 сутки декапитацией под наркозом. В крови оценивали общую антиоксидантную активность (АОА) и ПОЛ методом биохемилюминесценции, определяли уровень малонового диальдегида (МДА), в эритроцитах исследовали активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД). Результаты обработки с помощью Statistica 6.0 с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты. Показано, что КТТ привела к достоверному снижению СОД, каталазы и АОА плазмы крови на 26%, 10% и 51%, повышению ПОЛ в плазме и эритроцитах на 10% и 38%, увеличению МДА в плазме и эритроцитах на 91% и в 2 раза по сравнению со здоровыми животными, способствуя развитию оксидативного стресса. Ингаляции NO вызвали снижение ПОЛ при КТТ в плазме и эритроцитах на 16% и 30%, уменьшение МДА в плазме в 2,5 раза, повышение АОА на 54%, увеличение активности антиоксидантных ферментов в 2 раза по сравнению с контролем. Характер влияния NO на различные биохимические и физиологические процессы осуществляется при взаимодействии NO с биомолекулами. Заключение. Таким образом, ингаляции NO



при КТТ способствуют активации антиоксидант-ной системы (повышая АОА, СОД и каталазу) и снижению ПОЛ в плазме и эритроцитах, оказывая защитное воздействие против окислительного стресса, тканевой гипоксии, проявляя протекторные функции на молекулярном уровне.

РОЛЬ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ В ИНДУКЦИИ СИНТЕЗА IDOV ММСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ.

Суздальцева Ю.Г.^{1,2}, Горюнов К.В.², Рубцов Ю.П.²,
Ткачук В.А.²

1 – ФГБУН НИИ ФХМ ФМБА России, г. Москва, Россия

2 – ФФМ МГУ имени М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) обладают выраженными иммуносупрессивными свойствами. В механизмах, определяющих иммуносупрессивный потенциал ММСК в очаге воспаления, могут быть задействованы растворимые факторы, вырабатываемые ими в ответ на воздействие провоспалительного микроокружения, и непосредственные межклеточные контакты между ними и активированными клетками иммунной системы. Целью настоящей работы явилось изучение влияния межклеточных контактов на способность ММСК жировой ткани проявлять эффект иммуносупрессии по отношению к мононуклеарным клеткам периферической крови (МПК), активированных фитогемагглютинином (ФГА) *in vitro*. В работе были использованы методы культивирования клеток, выделенных из жировой ткани и периферической крови, точная цитофлюориметрия, ПЦР с обратной транскрипцией.

В наших экспериментальных условиях мы показали, что ММСК жировой ткани оказывают иммуносупрессивный эффект, проявляющийся в подавлении пролиферации МПК, активированных ФГА, при сокультивировании с ними в контактных и бесконтактных условиях. Было установлено, что активация приводит к повышению способности МПК образовывать адгезивные контакты с ММСК жировой ткани. Иммуноцитотипический анализ показал, что в этом процессе участвуют не все субпопуляции МПК. В основном этот эффект обеспечивается за счет субпопуляции CD4⁺ Т-лимфоцитов. Выявлено, что при сокультивировании с активированными МПК в ММСК жировой ткани повышается синтез и экспонирование на мембране молекулы адгезии ICAM-1, а также индуцируется синтез костимуляторных молекул CD80 и CD86, которые участвуют в установлении межклеточных контактов с CD4⁺ Т-лимфоцитами посредством взаимодействия с их контррецепторами. Показано, что при сокультивировании ММСК жировой ткани с активированными МПК в супернатанте увеличивается концентрация интерферона-гамма, в усилении синтеза которого играет важную роль взаимодействие рецепторной пары Т-клеточного LFA1 и ICAM-1 на поверхности ММСК жировой ткани и МПК. Установлено, что в присутствии межклеточных контактов с активированными МПК в ММСК индуцируется синтез индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), для активации ферментативной активности которой необходимо воздействие интерферона-гамма, а также дополнительный сигнал в виде



лигирования рецепторной пары CD80/CD86 и CTLA4/CD28 на CD4+Т-лимфоцитах. Истощение среды культивирования по триптофану и накопление его катаболита кинуренина под действием IDO приводит к аресту клеточного цикла Т-лимфоцитов, что приводит к подавлению их пролиферации. Полученные данные позволяют прояснить механизм иммуносупрессии, опосредованной ММСК, с участием контактных взаимодействий с активированными CD4+ Т-лимфоцитами.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ГЛАДКОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ВНЕДРЕНИЯ В НЕЁ ПОЛИТЕТРАФТОРЭТИЛЕНА

Созыкин А.А.

Ростовский Государственный медицинский Университет,
Ростов-на – Дону, Россия.
Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии.

Актуальность проведенного исследования обусловлена поиском новых методов коррекции слабости сфинктерных гладкомышечных аппаратов, врожденным отсутствием или патологией клеток нервных узлов в стенке органов желудочно – кишечного тракта человеческого организма. Целью работы являлось выяснение адаптивных возможностей гладкой мышечной ткани желудка, тонкой и толстой кишки 10 взрослых куриц, уток и крыс после хирургически внедренного в неё полимера – политетрафторэтилена компании Vascutek (серийно изготавливаемый «протез сосуда» MAXIFLOTMC толщиной стенки 0, 41 мм.) Вокруг имплантата на 15, 30, 120-е сутки после операции забирались и исследовались 1 миллиметр гладкой мышечной ткани. Применялись методы: классической гистологии, иммуногистохимии, прицельной растровой электронной микроскопии, статистически объективной стереоморфометрии. Полученные результаты убеждают, что на клеточном уровне, диапазон посттравматических изменений вокруг политетрафторэтилена протекает в пределах асептического воспаления при кооперации лимфоцитов, активированных фибробластов и, реорганизованных в “сократительно-синтетический” фенотип, лейкоцитов. Последние две клеточные группы, к 30-м суткам эксперимента, окончательно формируют вокруг полимера тонкую бессосудистую соединительнотканную капсулу. «Пережившие» травму, сохранившие и восстановившие межмиоцитарные связи, «прикапсульные» гладкие мышечные клетки, уже к 15-м суткам эксперимента имеют достоверно регистрируемые проявления экспортной синтетической активности. Из проведенного нами исследования следует вывод о целесообразности использования биоинертных полимеров подобного класса в качестве «обертки» для микрочипов, могущих успешно корректировать некоторые патологические состояния, как со стороны вегетативной нервной системы, так и со стороны гладкой мускулатуры пищеварительного тракта человека.



МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ЭНДОГЛИНУ ИНГИБИРУЮТ ПРОДУКЦИЮ ЕГО РАСТВО- РИМОЙ ФОРМЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ EA.HY926

СМИРНОВ И.В., ТЕРЕХИНА Л.А., ГРЯЗЕВА И.В.

ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий,

Актуальность. Эндоглин (Eng, CD105) – гликопротеин, экспрессируемый на поверхности эндотелия сосудов и мезенхимных стволовых клеток (МСК). Он принимает участие в регуляции процессов ангиогенеза при репарации тканей. Растворимая форма эндоглина (sEng), обнаруживаемая в сыворотке крови, образуется путем отщепления экстраклеточного домена молекулы матриксной металлопротеиназой-14 (ММР-14). В высокой концентрации sEng индуцирует дисфункцию клеток эндотелия сосудов. Предпринятые попытки ингибирования его продукции с помощью коротких рекомбинантных пептидов, включающих распознаваемый ММР-14 сайт протеолиза, не принесли ожидаемых результатов.

Цель работы состояла в исследовании влияния полученных в лаборатории моноклональных антител (МКАТ) к Eng на продукцию его растворимой формы клетками МСК жировой ткани человека и эндотелиальной линией EA.hy926.

Материалы и методы. Клетки выращивали до 100% конfluence, заменяли среду и вносили МКАТ до концентрации 5 мкг/мл. Контрольные опыты проводили в среде без антител. Клетки культивировали 9 дней без замены среды. Аликвоты надосадков отбирали каждые 48-72 ч. Изучены эффекты восьми МКАТ, распознающих минимум четыре антигенные детерминанты. Продукцию sEng оценивали в двух вариантах двуцентровых систем ИФА. Реагенты для тестирования подбирали руководствуясь взаимной топографией распознаваемых МКАТ эпитопов. Таким образом, находившиеся в культуральной среде МКАТ не препятствовали взаимодействию антигена с компонентами двуцентровых систем.

Результаты. Продукции sEng клетками МСК не выявлено. Рост концентрации антигена в среде клеток EA.hy926 наблюдали в течение всего эксперимента. Присутствие МКАТ 2C8, 5B6 и 5F1 умеренно снижало его продукцию. Ингибирование этого процесса реагентом 4C9 оказалось более выраженным. На 9-й день эксперимента концентрация sEng в контроле составляла $15,0 \pm 1,2$ нг/мл ($n = 4$), а в опыте – $3,7 \pm 0,5$ нг/мл ($n = 4$). Различия статистически достоверны ($p < .001$).

Выводы. Таким образом, показана возможность эффективного ингибирования продукции sEng эндотелиальными клетками с помощью специфичных МКАТ 4C9.



ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФНО-АЛЬФА НА МОДЕЛИ МЕТАСТАЗИРУЮЩЕГО В КОСТИ ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА L1210/1

СЫСОВА* Г.М., ЗОНОВ Е.В. ** Е.И., ДАНИЛЕНКО* Е.Д.,
ГРУНЕВА* Л.В., ЛЕВАГИНА* Г.М.

* ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Бердск, Россия;

**ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия

Фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α), природный противоопухолевый агент, представляет большой интерес с точки зрения терапии костных метастазов опухолей, что связано как с его избирательной способностью тормозить рост злокачественных клеток, активировать иммунный противоопухолевый ответ, оказывать повреждающее действие на сосуды опухоли, так и его функцией регулятора процессов ремоделирования кости. Целью данного исследования являлась оценка влияния рекомбинантного ФНО- α человека на развитие экспериментальных костных метастазов. Для индукции метастазов мышам линии DBA/2 внутривенно вводили клетки лейкоза L1210/1 (в дозе 25 тыс. клеток/мышь), отличающиеся повышенной тропностью к костной ткани. Животным опытной группы через 14 суток после перевивки опухоли вводили внутривенно препарат ФНО- α (ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор») в дозе 1000 МЕ на 20 г веса, контрольным мышам – физиологический раствор. Через 2 суток после введения препарата животных подвергали эвтаназии цервикальной дислокацией, выделяли верхнюю часть черепа, фиксировали в 10% растворе формалина и декальцинировали. Светооптическое исследование гистологических срезов черепов мышей с привитым внутривенно лейкозом L1210/1 показало, что частота встречаемости костных метастазов в контрольной группе животных составила 100%, в опытной группе – 40%. Гистологическая картина сагиттальных швов черепа этих животных полностью соответствовала норме. Полученные данные свидетельствуют о том, что введение препарата ФНО- α приводит к снижению интенсивности процессов метастазирования лейкоза L1210/1.

Данная публикация подготовлена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы», Соглашение о предоставлении субсидии № 14.604.21.0061 от 27.06.2014. Уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI60414X0061.



СОЗДАНИЕ ТКАНЕИНЖИНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ЦЕЛЮ ЕЕ ПРИМЕ- НЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

СКАЛЕЦКИЙ Н.Н., КИРСАНОВА Л.А., БАРАНОВА Н.В.,
БУБЕНЦОВА Г.Н., СКАЛЕЦКАЯ Г.Н., СЕВАСТЬЯНОВ В.И.

ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И.Шумакова», Москва, Россия

Актуальность. В настоящее время клеточная трансплантация является одним из наиболее интенсивно развивающихся научных направлений в биологии и медицине. Одно-временные достижения науки о биоматериалах сделали реальной разработку тканеинженерных конструкций (ТИК). Настоящее исследование посвящено изучению возможности создания ТИК поджелудочной железы (ПЖ).

Цель исследования – изучение взаимного влияния коллагенсодержащего биоматрикса и культур островковых клеток (ОК) как основных компонентов ТИК ПЖ.

Материалы и методы. Флотирующие культуры ОК получали с помощью разработанного нами метода из ПЖ новорожденных кроликов. В качестве микроструктурированного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса (МКГМ) использовали Сферо®ГЕЛЬ (Россия). Через 7 и 14 суток совместной инкубации культур ОК и МКГМ образцы культивируемого материала исследовали с помощью гистологических и иммуногистохимических методов с окрашиванием на инсулин, глюкагон и цитокератины 18 и 19.

Результаты. К концу 1-й недели совместного культивирования МКГМ и ОК отмечалось прикрепление последних к поверхности биоматрикса. При этом подтверждалось сохранение значительного количества панкреатических β - и α -клеток как на 7-е, так и на 14-е сутки сокультивирования. Вокруг части флотирующих культур, соединившихся с МКГМ, формировались эпителиоподобные однослойные зоны роста, состоящие, как показал иммуногистохимический анализ, из прогениторных клеток ПЖ.

Выводы: 1. Продемонстрирована хорошая совместимость культур ОК и МКГМ, обеспечивающая не только длительное сохранение морфофункциональных свойств эндокринных панкреатических клеток, но и формирование культур прогениторных клеток ПЖ. 2. Полученные результаты позволяют рассчитывать на успешное создание ТИК ПЖ с использованием исследованных культур ОК и коллагенсодержащего биоматрикса.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭНДОГЕННЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

СКУРИХИН Е.Г., ПЕРШИНА О.В., ЕРМАКОВА Н.Н., КРУПИН В.А.,
ПАХОМОВА А.В., ХМЕЛЕВСКАЯ Е.С., ЕРМОЛАЕВА Л.А., ПАН Э.С.,
ДЫГАЙ А.М.

НИИФирм им. Е.Д. Гольдберга, Томск, Россия



Актуальность. Фармакологическая регуляция эндогенных стволовых клеток и прогениторных клеток один из возможных подходов ингибции типовых патологических процессов (воспаление, фиброз) и стимуляции регенерации тканей. Актуален поиск соединений, способных изменять функции эндогенных стволовых и прогениторных клеток.

Цель. Оценить эффективность регуляции эндогенных стволовых и прогениторных клеток соединениями из различных фармакологических групп для ингибции воспаления, фиброза и стимуляции регенерации легких, поджелудочной железы, тестикулярной ткани и системы крови.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на мышах линий C57BL/6, BALB/C и CBA. Моделировали сахарный диабет, пневмофиброз, эмфизему легких, миелосупрессию, рак молочной железы. Материалом для исследования выступали лёгкие, поджелудочная железа, костный мозг, кровь, молочная железа и др. ткани. В работе использовали гистологические, цитометрические, культуральные методы исследования. Уровень цитокинов и гормонов изучался методом иммуноферментного анализа. Были изучены нейротропные препараты, препараты рекомбинантных цитокинов, соединения, изменяющие внеклеточный матрикс, растительные лекарственные средства, фармакологически активные молекулы на носителях и др. молекулы.

Результаты. В результате исследования для каждой группы фармакологически активных молекул выявлены мишени-стволовые клетки. Предложены новые подходы ингибции воспаления и фиброза, и стимуляции регенерацию тканей при патологии легких, поджелудочной железы, молочной железы, системы крови и др. тканей. Был сделан общий вывод, что эти подходы можно предложить для внедрения в регенеративную медицину.

Выводы. Фармакологическая регуляция эндогенных стволовых и прогениторных клеток снижает активность воспаления и фиброза, стимулирует регенерацию тканей.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ ПЛАЦЕНТАРНЫХ МКРНК В ПЛАЗМЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

ТИМОФЕЕВА А.В., ГУСАР В.А., ПРОЗОРОВСКАЯ К.Н.,
ЛОМОВА Н.А., ГАНИЧКИНА М.Б., ХОВХАЕВА П.А., КАН Н.Е.,
ТЮТЮННИК В.Л., НИЗЯЕВА Н.В., ФРАНКЕВИЧ В.Е., БОБРОВ М.Ю.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии»
имени академика В.И. Кулакова;

Актуальность. Преэклампсия (ПЭ), мультисистемное патологическое состояние, осложняющее течение беременности, является одной из ведущих причин материнской и перинатальной смертности. Развитие полиорганной недостаточности при ПЭ обусловлено возникновением генерализованной сосудистой дисфункции, пусковым механизмом



которой является нарушение инвазии цитотрофобласта в спиральные маточные артерии с последующим повреждением эндотелия сосудов циркулирующими в крови факторами, в том числе плацентарного происхождения, приводящим к дисбалансу эндотелий-зависимых процессов вазодилатации и вазоконстрикции. Важную роль в регуляции этих процессов играют малые некодирующие РНК (мкРНК). Цель. Сравнительный анализ профиля экспрессии мкРНК в образцах плаценты и плазмы периферической крови женщин с физиологически протекающей беременностью и ПЭ. Материалы и методы. Использован метод глубокого секвенирования (HiSeq 2000, Illumina) мкРНК в образцах плаценты и плазмы крови практически здоровых женщин и беременных с ранней (25 нед) и поздней (39 нед) ПЭ. Результаты. Обнаружены изменения уровня экспрессии более чем в 2 раза 89 мкРНК в плаценте женщин с ранней и поздней ПЭ, среди которых 5 мкРНК (hsa-miR-371a-3p -371a-5p -372-3p -373-3p -519a-3p) и 7 мкРНК (hsa-miR-412-5p-432-5p-136-5p-369-5p-539-5p-494-3p-376a-5p) специфичны для трофобласта и кодируются ассоциированными с беременностью кластерами ДНК хромосом 19 и 14, соответственно. У 8 мкРНК (miR-1307-5p -1285-3p -183-5p -1246, -375, -130b-3plet-7c-5plet-7e-5p) обнаружена дифференциальная экспрессия как в плазме, так и плаценте женщин с ранней и поздней ПЭ. Выводы. Обнаруженные мкРНК являются потенциальными регуляторами сигнальных путей, участвующих в структурном ремоделировании сосудистой стенки, процессах клеточной адгезии, апоптоза и пролиферации, воспалении, сократимости гладкомышечных клеток и работе ренин-ангиотензиновой системы, формирующих основные звенья патогенеза ПЭ.

ПРИМЕНЕНИЕ РЕПАРАНТА ПРИ ВТОРИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГАСТРОДУОДЕ- НАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У ШКОЛЬНИКОВ

ТУРДЫЕВА Ш.Т.

Ташкентский Педиатрический Медицинский институт,

Актуальность. В практике, как детского врача, так и врача общей практики наиболее из года в год увеличивается встречаемость хронической гастродуоденальной патологии (ХГДП), длительное рецидивирующее течение которых приводит к значительному снижению качества жизни детей и развитию различных осложнений ().

Цель. Изучение клинических результатов применения репаранта (метилурацила) при профилактике обострений ХГДП у детей и подростков школьного возраста.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 122 детей школьного возраста с различными формами ХГДП в периоде ремиссии. Средний возраст – $11,8 \pm 2,5$ лет. Все обследуемые больные дети были разделены на 2 исследуемые группы: основная группа – 51,64% (n=63), контрольная группа – 48,36% (n=59) детей. В обеих группах находились дети с похожими формами ХГДП с соответствующей возрастной категорией. Были проведены: общий анализ крови, копрология, биохимию кала с выявлением скрытой



крови, ЭФГДС с контактной pH-метрией. Наблюдение за эффективностью профилактики осуществлялся в течение 1,5 года.

Результаты и обсуждение. Многие препараты, используемые в качестве базисной терапии при лечении ХГДП, оказались способными корректировать процессы репаративной регенерации (холинолитики, блокаторы H₂-рецепторов гистамина, цитопротекторы и др). Учитывая морфологические изменения, происходящие при ХГДП, с целью вторичной медикаментозной профилактики ХГДП, нами был выбран препарат относящийся к группе нестероидных анаболических средств (стимулятор регенерации) – Метилурацил. В ходе наблюдения было отмечено, что регенерационные процессы у детей из основной группы проходили в среднем на 2,5 раза быстрее по отношению к контрольной группе. Эффективность проводимой нами профилактического лечения характеризовалась большой перечней клинических симптомов, в том числе желудочно-кишечной диспепсией у детей с ХГДП (от 21 до 75%). В частности отмечали такие признаки, как: нарушение аппетита (27% против 49%); чувство тяжести в эпигастральной области или ощущение раннего насыщения (25% против 44%); отрыжка воздухом и изжога (22% против 29%); сухость во рту и неприятный запах изо рта (49% против 54%); вздутие и урчание в животе (33% против 42%); неустойчивый стул (52% против 68%) ($p > 0,05$). В ходе проведения мероприятий по профилактике обострения ХГДП в течение наблюдаемого периода у 22 (18,0%) детей было отмечено повторное обострения заболевания. При этом, из них 17 (28,8%) детей входили в контрольную и 5 (7,9%) – в основную исследуемую группу детей.

Разница показателей между основной и контрольной группой составила 20,9% ($p > 0,05$), что является ощутимым положительным результатом в ходе проведения вторичной профилактики ХГДП у детей.

Вывод. Применение репаративных, в частности метилурацила в комплексе вторичной профилактики ХГДП у школьников, способствует снижению до 2,5 раза показателей диспепсических и астеновегетативных расстройств ($p > 0,05$). При эндоскопическом исследовании регенерационные процессы проходили в среднем на 2,5 раза быстрее по отношению к контрольной группе.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОГО МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА, ПОДВЕРГШИХСЯ КОРОНАРНОЙ АНГИОГРАФИИ СО СТЕНТИРОВАНИЕМ

Туляганова Д.К., Шодиев Ж.Д., Раджабова Д.И., Тошев Б.Б.

АО «Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр терапии и медицинской реабилитации», г. Ташкент, Узбекистан.

Актуальность. При помощи стресс эхокардиографии (стресс-ЭхоКГ) можно выявить зоны жизнеспособного миокарда с последующей реваскуляризацией, которая помогает



добиться улучшения гемодинамических показателей и повышения качества жизни больных ишемической болезнью сердца (ИБС).

Цель – определение жизнеспособных зон миокарда с помощью добутаминовой пробы у больных ИБС, подвергшихся коронарной ангиографии (КАГ) с последующим стентированием.

Материал и методы: В исследование включены 55 больных ИБС, подвергшихся реваскуляризации миокарда. Средний возраст больных – $58,3 \pm 6,7$ лет. Всем больным до и после стентирования проведены КАГ, ЭхоКГ, стресс-ЭхоКГ с добутамином.

Результаты: При инфузии малых доз добутамина инотропная стимуляция вызвала усиление кинетики всех стенок ЛЖ, восстановление исходной асинергии, увеличение общей и сегментарной сократимости. Существенно уменьшалось КСР с $4,1 \pm 0,3$ см до $3,2 \pm 0,1$ см ($p < 0,05$), при неизменном КДР (на I этапе $5,5 \pm 0,2$ см; на II этапе $5,5 \pm 0,1$ см). На II втором этапе исследования выявлены 74% нормокинетичных сегмента, гипокинетичных – 24% и акинетичных – 2%. Необратимая дисфункция миокарда определена в 26% сегментов, обратимая – в 55%. Индекс нарушения сегментарной сократимости (ИНСС) на малых дозах достоверно уменьшился до $1,2 \pm 0,03$ ($p < 0,05$). Всем больным проведена ТЛБАП со стентированием. Значения систолического утолщения стенок увеличились и стали превышать исходные показатели. ФВ достоверно возросла на 5% по сравнению с исходной ($p < 0,05$).

Выводы: Таким образом, у больных ИБС с дисфункцией ЛЖ проведение стресс-ЭхоКГ с добутамином позволяет идентифицировать участки миокарда с нарушенной сократительной способностью, восстановление коронарного кровотока в которых улучшает его регионарную и общую сократимость.

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МСК К НОРАДРЕНАЛИНУ

Тюрин-Кузьмин П.А., Фадеева Ю.И., Калинина Н.И.,
Сысоева В.Ю., Канарейкина М.А., Котова П.Д.,
Колесников С.С., Ткачук В.А.

МГУ имени М.В. Ломоносова, ФФМ, Москва, Россия

Актуальность. Мезенхимные стромальные клетки (МСК) принимают участие в процессах репарации, регенерации и обновления тканей. Активность МСК регулируется сигнальными системами организма, среди которых гормоны и симпатическая нервная система. Катехоламинами регулируют дифференцировку и секреторную активность МСК костного мозга. Ранее мы показали, что МСК жировой ткани (МСК-ЖТ), экспрессирующие адренорецепторы, проявляют повышенное иммуносупрессорное действие. Несмотря на то, что $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -адренорецепторы экспрессируются практически на всех МСК-ЖТ, функциональную активность проявляет лишь небольшая часть клеток (5–15% всей популяции МСК-ЖТ). **Цель:** Выяснить механизмы регуляции чувствительности МСК-ЖТ к норадреналину. **Материалы и методы.** Регистрация изменений внутриклеточной концентрации



кальция, вестерн-блоттинг, проточная цитометрия. Результаты. Мы предположили, что повторяющееся воздействие норадреналина на МСК-ЖТ может приводить к изменению чувствительности клеток к норадреналину. Для проверки гипотезы мы преинкубировали МСК-ЖТ с норадреналином и регистрировали функциональную активность адренорецепторов при помощи регистрации внутриклеточного кальция. Через 6 часов после преинкубации происходило транзитное повышение чувствительности клеток к норадреналину. При этом снижалась минимальная концентрация норадреналина, необходимая для активации кальциевых транзиентов. Повышение чувствительности клеток происходило в результате дополнительной экспрессии всех изоформ адренорецепторов. Повышение чувствительности МСК-ЖТ было опосредовано активацией β -адренорецепторов, аденилатциклазы и синтеза цАМФ, который запускал синтез дополнительного количества адренорецепторов. $\alpha 2$ -адренорецепторы, а также специфические ингибиторы синтеза цАМФ снижали чувствительность МСК-ЖТ к норадреналину. Вывод. Чувствительность мезенхимных стромальных клеток к норадреналину регулируется транзитно посредством изменения внутриклеточного уровня цАМФ с участием $\alpha 2$ - и β -адренорецепторов. Работа поддержана грантом РНФ № 14-15-00439.

ОПЫТ СОЗДАНИЯ И ИСПЫТАНИЯ АНГИОГЕННЫХ, НЕЙТРОТРОФНЫХ И АНТИФИБРОТИЧЕСКИХ ГЕНО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

ТКАЧУК В.А., ПАРФЁНОВА Е.В.

Факультет фундаментальной медицины,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Генная терапия является одним из ключевых и наиболее эффективных путей стимуляции регенеративных процессов при лечении сердечно-сосудистых, неврологических, гастроэнтерологических и других заболеваний. Данный подход позволяет использовать широкий спектр белков и пептидов, которые экспрессируют в тканях с помощью плазмид, обладающих высокой безопасностью и позволяющих транзитно продуцировать в ткани факторы роста, протеолитические ферменты и цитокины.

В представляемом докладе обобщается наш многолетний опыт разработки, испытания и исследования механизмов действия генно-терапевтических препаратов, направленных на стимуляцию роста сосудов, регенерацию периферических нервов и разрешение цирроза печени и восстановление ее функции. Полученный в ходе доклинических и клинических испытаний опыт позволил прийти к принципиально новым путям решения проблем эффективности, существующих в данной области и задать новый вектор для исследований.

Разработанные нами препараты для генной терапии с помощью урокиназного активатора плазминогена, ангиогенных факторов роста (VEGF, PDGF и др.), нейротрофных (BDNF, NGF), гепатотропных (HGF) белков и их комбинаций позволила значительно расширить спектр патологических состояний для лечения и обнаружить целый ряд новых



закономерностей, который легли в основу принципиально новых препаратов, которые прошли стадию доклинических и клинических испытаний и в ближайшие годы могут быть внедрены в практику.

Полученные в ходе исследований данные раскрывают и фундаментальные механизмы регенерации, лежащие в основе терапевтических эффектов генной терапии, а также значительно расширяют возможности регенеративной медицины при целом ряде тяжелых заболеваний, для которых не существует альтернативных методов лечения.

ОСОБЕННОСТИ ОТВЕТА ММСК НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

УДАРЦЕВА¹ О.О., ЖИДКОВА¹ О.В., БУРАВКОВ² С.В.

1 – ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия

2 – ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Актуальность. Важнейшим регулятором физиологических и патологических процессов в организме являются АФК, однако их роль в функционировании мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) до сих пор изучена недостаточно. Содержание O_2 в среде является одним из факторов, оказывающих влияние на функциональное состояние ММСК, поэтому гипоксия может оказывать существенное влияние на чувствительность ММСК к АФК. В настоящей работе для генерации АФК использовали фотодинамическое воздействие (ФДВ) – один из удобных подходов, позволяющих контролируемо индуцировать эндогенные АФК в клетках.

Цель. Исследовать влияние концентрации O_2 в среде культивирования на чувствительность ММСК к ФДВ различной интенсивности.

Материалы и методы. В работе использовали ММСК жировой ткани человека, культивируемые при 20% (ММСК-20) и 1% O_2 (ММСК-1). Для проведения ФДВ использовали Фотосенс® (ФС®, 10 мкг/мл) и лазерную установку АЗОР-ФДВ ($\lambda=675$ нм). Через 1–24 ч после ФДВ анализировали содержание внутриклеточных АФК, экспрессию молекул адгезии, жизнеспособность и паракринную активность клеток.

Результаты. ФДВ дозозависимо индуцировало образование АФК и апоптотическую гибель клеток. По сравнению с ММСК-20 устойчивость ММСК-1 к высоким дозам воздействия (≥ 1 Дж/см²) была ниже, а к низким дозам – выше. Низкоинтенсивное ФДВ (0,25 Дж/см²) не оказывало влияния на жизнеспособность клеток, но вызывало перестройку актинового цитоскелета, снижало способность ММСК к ненаправленной миграции и модифицировало их паракринную активность (ИЛ-6↑, ИЛ-8↑, VEGF↑, TGFβ↓). При этом эффект был более выражен в ММСК-20. Низкие дозы ФДВ увеличивали экспрессию ICAM-1 в ММСК-20, но не в ММСК-1.

Выводы. Высокие дозы ФДВ индуцируют клеточную гибель, в то время как низкие способны модифицировать функциональную активность ММСК. Гипоксия увеличивает чувствительность ММСК к повреждающему воздействию и снижает их восприимчивость к регуляторным дозам АФК, индуцированных ФДВ.



Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 14-04-32267 «мол_а») и стипендии Президента (СП-6775.2013.4).

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ФИБРОБЛАСТОВ ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

ФАДЕЕВ Ф.А., ЛУГОВЕЦ Д.В., УЛИТКО М.В., ЛЕОНТЬЕВ С.Л.,
САЗОНОВ С.В.

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург, Россия

Актуальность. В Институте хирургии им. А.В. Вишневского проф. А.А. Алексеевым (г. Москва) разработана методика ускорения заживления ран с помощью дермального эквивалента, представляющего собой полимерную пленку «Карбосил-П» с адгезированными на ее поверхности фибробластами. Для получения в достаточном количестве дермальных фибробластов должны использоваться технологии автоматизированного выращивания клеток, позволяющих максимально соответствовать требованиям GMP. Цель работы: разработка протокола культивирования дермальных фибробластов, предназначенных для терапевтического применения, с использованием роботизированной станции ComracT Select (Великобритания). Материалы и методы. Технология получения дермального эквивалента включает: (1) выделение из фрагмента кожи пациента с ожогами III степени первичной культуры фибробластов методом диссоциации тканей; (2) накопление биомассы полученной культуры на станции ComracT Select; (3) посев полученной культуры аутологичных фибробластов на матрицу «Карбосил-П». Результаты. Для автоматизации процесса накопления биомассы фибробластов разработан стандартный протокол пересева клеток, обеспечивающий гомогенность рассеиваемой клеточной суспензии и сохранение их жизнеспособности. Протокол позволяет получить при плотности посева 6 тыс. клеток / см² флакона на 5–6 сутки монослой с плотностью около 40 тыс. клеток / см². Срок автоматизированного культивирования с использованием протокола без вмешательства оператора составляет 7–8 дней, включая два посева клеток. Выводы. Станция ComracTSelect может использоваться для культивирования фибробластов для терапевтического применения. Станция позволяет наращивать достаточное количество клеток, поддерживать стерильность культуры и избегать ее контаминации микроорганизмами. В то же время, манипуляции по выделению клеток из кожи и посев полученной на станции клеточной массы на полимерные матрицы не подлежат автоматизации и проводятся вручную.



ПОЛУЧЕНИЕ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РОБОТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ COMPACT SELECT

ФАДЕЕВ Ф.А., УЛИТКО М.В., ЛУГОВЕЦ Д.В., САЗОНОВ С.В.,
ЛЕОНТЬЕВ С.Л.

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбу-
бург, Россия

Актуальность. Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) обладают иммуномодулирующей (в первую очередь, иммуносупрессивной) активностью, что позволяет использовать их при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) костного мозга для предупреждения развития реакции «трансплантат против хозяина» (GvHD). Существенным моментом производства МСК для терапевтического применения является возможность автоматизации этого процесса с использованием роботизированной станции, валидированной в соответствии с требованиями GMP. Цель работы. Разработка протокола технологии автоматизации процесса культивирования МСК с помощью роботизированной станции Compact Select (Великобритания). Материалы и методы. Процедура выделения МСК из костного мозга включает: (1) посев костного мозга в культуральные флаконы, получение первичной культуры МСК; (2) двукратный пересев выделенной культуры; (3) получение суспензии полученной клеточной культуры для терапевтического применения. Результаты. Разработана технология автоматизированного культивирования МСК с использованием протокола пересева клеток. Использование роботизированной станции позволяет частично автоматизировать процесс получения МСК из первичного материала (костного мозга), в частности, процедуры отсева первичного материала во флаконы, отмывки от неадгезировавших клеточных элементов и культивирования клеток с периодической сменой среды. В то же время, получение первичной культуры МСК требует непрерывного визуального контроля формирующихся клеточных микроколоний, что предполагает извлечение культуральных флаконов из станции. Получение готовой для применения клеточной суспензии не представляется возможным, так как по протоколу клетки необходимо отмыть от остатков ростовой среды и трипсина, что предполагает использование центрифуги, не предусмотренной в конструкции станции. Выводы. Станция Compact Select позволяет автоматизировать процесс культивирования и пересева МСК. В то же время получение первичной культуры и готовой для применения клеточной суспензии осуществляются вручную.



ФУНКЦИОНАЛЬНО ОТЛИЧНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ МСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА ЭКСПРЕС- СИРУЮТ РАЗЛИЧНЫЕ СУБТИПЫ АДРЕНОРЕЦЕП- ТОРОВ

ФАДЕЕВА Ю.И., ГОРЮНОВ К.В., ДЫЙКАНОВ Д.Т., ШАРОНОВ Г.В.,
СЫСОВЕВА В.Ю., РУБЦОВ Ю.П., ТЮРИН-КУЗЬМИН П.А.,
КАЛИНИНА Н.И., ТКАЧУК В.А.

ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

Актуальность: Катехоламины регулируют пролиферацию, дифференцировку и секрецию МСК костного мозга, действуя на $\beta 1$ - и $\beta 2$ -адренорецепторы. Для МСК жировой ткани (МСК ЖТ) показана экспрессия адренорецепторов, но их роль неизвестна. Популяция МСК ЖТ функционально гетерогенна. Под действием гормонов МСК через G-белок сопряженные рецепторы активируют Ca^{2+} сигнализацию. Мы это показали для агонистов $\alpha 1$, $\alpha 2$ и β адренорецепторов. Лишь небольшой процент клеток отвечает на агонисты адренорецепторов повышением концентрации Ca^{2+} в цитоплазме.

Цель: Исследовать молекулярные механизмы функциональной гетерогенности МСК. Методы: МСК выделяли из жира здоровых доноров и культивировали 2-3 пассажа. Субпопуляции, экспрессирующие адренорецепторы, выделяли на клеточном сортере. Экспрессию рецепторов выявляли методами ОТ-ПЦР, проточной цитометрии и иммуноблоттинга. Активность рецепторов выявляли регистрацией кальциевых ответов. Секреторные свойства измеряли по иммуносупрессорной активности при сокультивировании с лимфоцитами.

Результаты. Мы характеризовали иммунофенотип МСК ЖТ, экспрессирующих адренорецепторы, методом проточной цитометрии. При помощи ОТ-ПЦР, цитометрии, вестерн-блоттинга и иммуногистохимического окрашивания мы показали, что МСК ЖТ экспрессируют $\alpha 1A$, $\alpha 1B$, $\alpha 2A$, $\alpha 2B$, $\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 3$ адренорецепторы. Также мы показали, что в МСК ЖТ адренорецепторы функционально активны. Затем мы изучили свойства популяций, несущих разные типы адренорецепторов. Миграция и пролиферация МСК, экспрессирующих $\alpha 2B$ рецептор была в 1,5- 2 раза ниже популяций, положительных по другим адренорецепторам и популяций, не несущих адренорецепторы. Популяции, экспрессирующие $\alpha 1B$ и $\alpha 2B$ адренорецепторы, имели высокую секреторную активность, что проявлялось в их повышенном иммуносупрессорном действии.

Выводы: МСК ЖТ функционально гетерогенны. МСК ЖТ, экспрессирующие $\alpha 1B$ - и $\alpha 2B$ -адренорецепторы могут выполнять иммуносупрессорную функцию. Работа под-держана грантом РФФ № 14-15-00439.



ПРИНЦИПЫ РАЗРАБОТКИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ КСЕНОГЕННЫХ МАТРИЦ

ФАДЕЕВА И.С.^{1,2}, СЕНОТОВ А.С.¹, ФАДЕЕВ Р.С.^{1,2},
КИРСАНОВА П.О.¹, ПРОСВИРИН А.А.³, КУЗЬМИН М.В.^{1,2},
ФЕСЕНКО Н.И.², ЛЕКИШВИЛИ М.В.⁴, АКАТОВ В.С.^{1,2}

1 – ФГБУН ИТЭБ РАН, Пущино

2 – ФГБОУ ВПО «ПущГЕНИ», Пущино

3 – ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва

4 – ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова», Москва

Известно, что костная ткань (КТк) является вторым по частоте трансплантируемым материалом в мировой медицине (после крови или ее фракций). При этом широкий спектр представленных на рынке заменителей КТк не отвечает в полной мере показателям безопасности, эффективности или уровню биоинтеграции в организме реципиента. Несмотря на интенсивное развитие вспомогательных технологий повышения остеоиндуктивности ДКМ или ГАп-матриц, действительно эффективного материала для регенерации КТк до сих пор не получено. По мнению авторов доклада, данная проблема связана, прежде всего, с качеством первичных матриц, которые при условии изначального повреждения или несоответствия структуре нормальной КТк являются неэффективными и, помимо этого, могут вызывать отрицательный биологический эффект при введении в них каких-либо дополнительных факторов, прямо или опосредованно активирующих клетки реципиента.

Целью данной работы являлась разработка остеопластических материалов на основе ксеногенных матриц с подавленной иммуногенностью, высоким уровнем сохранности ВКМ, остеокондуктивности и биоинтеграции, а также возможностью дополнительной модификации технологией «цитокинового поля».

В работе сравнивали различные технологические подходы предимплантационной обработки ксеногенной КТк. Комплексный гистологический и спектроскопический анализ соответствующих вышеозначенным критериям отбора образцов проводили после 13-недельной гетеротопической имплантации крысам (в соответствии с требованиями ISO 10993 для резорбируемых материалов).

Полученные данные свидетельствуют о перспективности и эффективности разработанных авторами подходов децеллуларизации/делипидизации и щадящей деминерализации донорской КТк (Заявка на патент РФ), обеспечивающих высокий уровень биоинтеграции не только после модификации рекомбинантными цитокинами (PDGF/VEGF/BMP-2), но и при полном отсутствии дополнительных обработок известными остеоиндуктивными факторами.

Работа проведена при финансовой поддержке РФФИ (проект №14-04-32191), Совета по грантам Президента РФ (№СП-6867.2013.4, №СП-1519.2015.4), ГЗ ВУЗу (Проект №768), а также Программы Президиума РАН «ФИМТ» (№ФИМТ-2014-136).



НЕ ПОДВЕРЖЕННЫЕ КАЛЬЦИНОЗУ БИОМАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ АЛЛО- И КСЕНОПЕРИКАРДА ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

ФАДЕЕВА И.С.^{1,2}, САЧКОВ А.С.³, СОРКОМОВ М.Н.³, СЕНОТОВ А.С.¹,
ФЕСЕНКО Н.И.², ФАДЕЕВ Р.С.^{1,2}, БРИТИКОВ Д.В.³, МУРАТОВ Р.М.³,
АКАТОВ В.С.^{1,2}

1 – ФГБУН ИТЭБ РАН, Пушкино

2 – ФГБОУ ВПО «ПушГЕНИ», Пушкино

3 – ФГБУ «НЦССХ им. А.Н. Бакулева», Москва

Известно, что тканеинженерные материалы на основе биологических матриц, используемые для реконструктивных операций сердца и сосудов, обладают несомненными преимуществами перед синтетическими материалами, заключающимися не только в отсутствии пожизненной антикоагулянтной терапии и минимальным спектром ограничений для больного, но и постоянным развитием научно-обоснованных технологий подавления кальциноза имплантированной ткани, обеспечивающих их пожизненное (без повторных операций) использование у лиц старше 45-50 лет.

Целью данной работы являлась разработка не подверженных кальцинозу биоматериалов на основе алло- и ксеноперикарда и выявление эффективности их использования в реконструктивных операциях на сердце.

В работе была использована модельная тест-система реконструкции перегородки сердца и восполнения дефекта перикарда (ортотопическая имплантация, срок 10 месяцев). Все эксперименты были выполнены на молодых свиньях в условиях экспериментальной клиники НЦССХ им. А.Н. Бакулева. После эксплантации образцы тканей подвергались комплексному гистологическому анализу (световая, Leica DM6000 и конфокальная, Leica TCS SP5, микроскопия), а также измерению минерализованного кальция в образцах с помощью адсорбционной спектроскопии (Arsenazo III, Tecan Infinite F200).

Было показано, что полученные в соответствии с авторской методикой (Патент РФ №2499611) материалы как на основе алло- так и ксеноперикарда, обладают высокой степенью биосовместимости и биоинтеграции со здоровыми тканями реципиента, а также полностью подавленной способностью к развитию асептического кальциноза в организме реципиента. Разработанная авторская технология рекомендована для внедрения в клиническую практику на базе НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН.

Работа проведена при финансовой поддержке РФФИ (№14-04-32191), Совета по грантам Президента РФ (№СП-6867.2013.4, №СП-1519.2015.4), ГЗ ВУЗу (Проект №768), Программы Президиума РАН «ФИМТ» (№ФИМТ-2014-136), а также Фонда содействия РМФП НТС.



МЕХАНИЗМ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК

Фатхудинов Т.Х., Арутюнян И.В., Ельчанинов А.В.

Лаборатория регенеративной медицины ФГБУ “НЦАГиП” им. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия

На сегодняшний день мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются эффективным инструментом регенеративной медицины в отношении широкого ряда заболеваний. Однако по-прежнему отсутствует единая точка зрения в отношении механизмов терапевтической активности МСК. Считается, что в основе регенераторных свойств МСК лежит их возможность дифференцироваться в несколько клеточных типов, а также продукция цитокинов и факторов роста, регулирующих ангиогенез и репаративные процессы. В последнее время в научной литературе обсуждается роль МСК в поляризации макрофагов – индукции перехода фенотипа М1 (провоспалительного) в фенотип М2 (противовоспалительный и способствующий регенерации). Данная гипотеза была проверена в проведенном исследовании.

На моделях трансплантации МСК, меченных РКН26, при (1) критической ишемии задних конечностей и (2) субтотальной резекции печени были изучены динамика восстановления структуры и функции поврежденных органов, судьба трансплантированных клеток, изменение экспрессии генов ключевых цитокинов и факторов роста, а также изменение количества М2 (CD206+) макрофагов (поляризация макрофагов).

В обеих моделях было показано, что трансплантация МСК стимулирует восстановление поврежденных органов. Но при этом не зависимо от способа и места введения МСК не дифференцировались в специализированные клетки, более того наблюдали активную тотальную элиминацию меченых МСК с участием CD68+–клеток. Трансплантация МСК приводила к изменению профиля экспрессии генов некоторых сигнальных молекул, регулирующих воспаление и регенерацию. У экспериментальных животных, которым вводили МСК наблюдали поляризацию макрофагов в сторону М2.

Таким образом, терапевтический эффект МСК реализуется за счет паракринных факторов и, вероятно, ключевое значение имеет влияние этих факторов на поляризацию макрофагов.

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ, КАК РЕГУЛЯТОРЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ СЕМЕННИКОВ

Храмцова Ю.С.

ФГБУН ИИФ УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Неослабевающий интерес исследователей к свойствам тучных клеток (ТК) объясняется их полифункциональностью, участием в различных адаптивных реакциях и патологических процессах (О.С. Арташян, 2006). Присутствие в достаточно большом количестве



ТК в паренхиме тестикул предполагает их регуляторную роль. Высказано предположение, что возрастание содержания в яичках мастоцитов тесно связано с ухудшением сперматогенеза. С целью выяснения влияния ТК на восстановительные процессы в семенниках проведено морфологическое исследование тестикулов и содержания в них ТК на разные сроки после повреждения на фоне стабилизации мембран мастоцитов препаратом кетотифен.

Эксперименты проведены на крысах линии Вистар. Повреждение семенника наносили путём прокола иглой диаметром 3 мм. Препарат кетотифен давали перорально 2 раза в сутки в дозе 0,1 мг. в течение 7 суток. Оценку тучных клеток и репаративные процессы в семенниках изучали на 1, 7 и 30 сутки после операции. Значимость различий при статистической обработке экспериментального материала оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни.

При повреждении семенника количество ТК в нем не изменяется на все сроки эксперимента, однако при этом отмечается повышение синтетической и функциональной активности мастоцитов. В семеннике развиваются интенсивные и неугасающие спустя месяц процессы деструкции органа. Это выражается, прежде всего, в появлении нефункционирующих канальцев, снижении числа нормальных сперматогоний в канальцах, изменение архитектоники органа.

Инактивация ТК замедляет рост синтетической активности и резко снижает индекс дегрануляции этих клеток. Данные изменения не отменяют развитие деструктивных процессов в поврежденном семеннике, однако благоприятно сказываются на развитии восстановительных процессов и позволяют сохранить регенераторный потенциал органа. Это выражается в росте числа нормальных сперматогоний в канальцах, в значительном снижении числа нефункционирующих канальцев. Таким образом, инактивация тучных клеток способствует репаративной регенерации семенника.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С БАРДЕ-БИДЛЯ СИНДРОМОМ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕГИРОВАНИЯ

Христу-Савина Софья Валерьевна

Institute of Child Health, University College London

Актуальность: Барде- Бидля синдром (BBS) является редким (1:150 000) аутосомно – рецессивным генетическим заболеванием, которое характеризуется ранней дегенерацией сетчатки, ожирением, когнитивными нарушениями, полидактилией, и поликистозом почек. На данный момент идентифицированы восемнадцать BBS генов (BBS1 – 18), нарушения которых связано с данным заболеванием. Психоневрологическим компонентом BBS являются: поведенческие трудности, такие как расторможенность, невозможность признать социальные сигналы, обсессивно- компульсивные тенденции, тревоги и депрессии, аутизма и даже психоз. Несколько лет назад было показано, что основная функция



BBS белков заключается в поддержании структуры и функции первичного цилия (primary cilia), который является антеннообразной структурой на практически всех клетках, включая нейроны. Это открытие привело к введению нового термина, ciliopathies, для обозначения генетических заболеваний связанных с нарушением функции клеточного цилия. Несмотря на значительные успехи в понимании этиологии Барде- Бидля синдрома, молекулярный механизм замедленного умственного развития остаётся неизученным.

Цель: Предлагаемое нами исследование направлено на то, чтобы выяснить каким образом потеря цилиарных BBS белков приводит к когнитивным нарушениям и ухудшению способности к обучению и возможно ли восстановление функции цилия

Материалы и Методы: Барде- Бидля синдром трансгенные мыши (Bbs mice) были использованы в этом исследовании. Структура пирамидных нейронов гиппокампуса, амигдалы и коры головного мозга была проанализирована после окрашивания по Голджи Кох.

Результаты: Мы показали, что структура Bbs нейронов значительно отличается от структуры контрольных нейронов. Дендриты Bbs нейронов значительно короче контрольных, а также количество дендритных шипиков значительно уменьшено на Bbs нейронах. Уменьшение количества шипиков были найдены на нейронах гиппокампуса, амигдалы, и коры. Мы также показали, что количество дендритных шипиков может быть частично восстановлено в результате добровольных упражнений (колесо со счетчиком было помещено в клетку с мышами).

Выводы: Когнитивные нарушения при синдроме Барде-Бидля могут быть объяснены изменениями в структуре нейронов. Широко распространено мнение, что регуляция формы, состава, и стабильности дендритных шипиков является важным компонентом нейрональной пластичности. Неправильно сформированные шипики или уменьшение их числа наблюдается во многих заболеваниях, в том числе эпилепсия, инсульт, шизофрении, умственная отсталость. Мы предполагаем, что значительное уменьшение дендритных шипиков в Барде- Бидля синдроме и, как результат, уменьшение количества синапсов между нейронами является основным механизмом когнитивных расстройств.

ПОЛУЧЕНИЕ АЛЬБУМИН-ПРОДУЦИРУЮЩИХ ГЕПАТОЦИТ-ПОДОБНЫХ КЛЕТОК ИЗ ФЕТАЛЬНЫХ И ВЗРОСЛЫХ ФИБРОБЛАСТОВ КОЖИ.

Холоденко И.В.¹, Лупатов А.Ю.¹, Холоденко Р.В.²,
Бурунова В.В.¹, Ярыгин К.Н.¹

1 – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им.
В.Н. Ореховича», Москва, Россия

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, РАН, Москва, Россия

Гепатоциты являются важным объектом биомедицинских исследований в области регенеративной медицины и разработки/скрининга новых лекарственных препаратов.



В регенеративной медицине одним из перспективных подходов, который может служить альтернативой ортотопической трансплантации печени, считается трансплантация гепатоцитов пациентам с терминальной стадией поражения печени, включая хронические вирусные гепатиты, гепатоклеточную карциному, цирроз печени и ряд других. Однако клеточная трансплантация требует продукции большого количества гепатоцитов, которые не способны длительное время пролиферировать в культуре, что делает невозможной их экспансию. Кроме того, изолированные гепатоциты в процессе манипуляций *in vitro* могут утрачивать ряд ключевых свойств. Поэтому многие исследователи фокусируются на разработке альтернативных клеточных источников для получения гепатоцитов и/или гепатоцит-подобных клеток *in vitro*. Целью нашей работы было создание и оптимизация протокола получения гепатоцит-подобных клеток из фетальных фибробластов кожи и фибробластов кожи взрослого донора. Кожа является богатым источником прогениторных клеток, которые легко изолировать и поддерживать в культуре длительное время без изменения фено- и кариотипа. Более того, при определенных условиях культивирования, в присутствии факторов роста EGF и bFGF, эти клетки сохраняют определенный дифференцировочный потенциал.

В своей работе мы использовали фетальные кожные фибробласты и фибробласты, полученные из кожи взрослого донора, в стандартных условиях культивирования. Для проведения гепатогенной дифференцировки использовали двухстадийный протокол: на первой стадии в качестве основного фактора, стимулирующего преддифференцировку клеток в гепатогенном направлении, применяли активин А в концентрации 100 нг/мл, на следующей стадии к культурам добавляли фактор роста гепатоцитов (10 нг/мл) и онкостатин М (10 нг/мл), оба этих фактора стимулируют созревание гепатоцитов. По окончании каждого этапа клетки окрашивали антителами к соответствующим маркерам и проводили оценку экспрессии на проточном цитофлуориметре. После первого дифференцировочного этапа клетки окрашивали антителами к альфа-фетопротеину, маркеру незрелых гепатоцитов. Мы показали, что после первой стадии дифференцировки фетальные кожные фибробласты (порядка 45% клеток) начинали экспрессировать альфа-фетопротеин на высоком уровне. Тогда как, фибробласты, выделенные из кожи взрослого донора, этот белок не экспрессировали. На заключительном этапе оба типа клеток экспрессировали преальбумин: около 45-50% фетальных фибробластов и 35-40% фибробластов кожи взрослого донора. Причем, Вестерн-блот анализ показал, что оба типа клеток секретируют альбумин. Также клетки претерпевали морфологические изменения, приобретая эпителиоподобную морфологию. Таким образом, мы показали, что при соответствующей оптимизации условий культивирования и дифференцировки кожа может служить источником для получения гепатоцит-подобных клеток *in vitro*.

Работа поддержана грантом РНФ № 14-15-00648



ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ СУХОЖИЛЬНО-СВЯЗОЧНОГО АППАРАТА С ПОМОЩЬЮ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ С МСК КОСТНОГО МОЗГА

Чайлахян Р.К.¹, Иванников С.В.², Суслин Д.С.²,
Тельпухов В.И.², Герасимов Ю.В.¹, Тоненков А.М.²,
Грошева А.Г.¹, Воробьева Н.Н., Баграташвили В.Н.³

1 – ФГБУ ФНИЦЭМ им Н.Ф.Гамалеи, Минздрава России, Москва, Россия

2 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, ул. Трубецкая д. 8

3 – ОПЛТ ФГБУН ИПЛИТ РАН, Москва, Россия, г. Троицк, ул. Пионерская д. 2.

Изучение восстановительных потенциалов тканей опорно-двигательного аппарата и путей направленного воздействия на ускорение репаративных процессов относятся к фундаментальным проблемам травматологии и ортопедии. Больные с повреждениями сухожилий и связочного аппарата составляют 10-12 % в структуре ортопедо-травматологических больных. Данная патология поражает население разных возрастных групп, но наиболее часто встречается среди спортсменов. Продолжительность реабилитационного периода наносит ощутимый экономический ущерб и делает чрезвычайно актуальной проблему разработки новых подходов, в частности клеточных технологий, в лечении повреждений сухожильно-связочного аппарата.

Целью настоящих исследований является изучение возможности восстановления целостности сухожилий и связок при их полном или частичном повреждении с помощью тканеинженерных конструкций с аутологичными стволовыми стромальными клетками костного мозга.

На ахилловом сухожилии кролика были разработаны модели повреждений и изучена морфология без трансплантации клеток. При морфологическом исследовании отмечено разрастание соединительной ткани, скопление макрофагов в области дефекта и дезориентация коллагеновых волокон. Для замещения дефектов на протяжении из костного мозга кроликов по известной методике выделяли и наращивали *in vitro* до необходимого количества аутологичные МСК. При замещении дефектов сухожилия на протяжении (0,5 см), в область дефекта укладывали тканеинженерную конструкцию, состоящую из трубочки из викриловой сетки с помещенной внутрь желатиновой губкой, содержащей 3х10⁶ МСК. Концы сухожилия укладывали внутрь трубочки вплотную к желатиновой губке, а саму трубочку с двух концов подшивали к сухожилию. Дополнительно в концы сухожилия примыкающие к губке в объеме 0,05 мл вводили 1х10⁶ МСК. Материал фиксировали через 60-120 дней.

В области регенерата в пучках 1 и 2 порядков ориентация коллагеновых волокон параллельна, как в нормальном сухожилии. Между коллагеновыми волокнами в отдельных участках наблюдаются скопления преимущественно фибробластов и незначительное количество фиброцитов. В препаратах, приготовленных из материала сухожилий обоих сроков фиксации, видны множество вновь образованных капилляров. По всей видимо-



сти, активный васкулогенез вызван трансплантированными клетками, которые в большом количестве синтезируют сосудистый фактор VEGF. Полученные результаты показали, что трансплантация стволовых стромальных клеток в область повреждения сухожилия приводит к восстановлению целостности сухожилия и может быть рекомендована для использования в клинике.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОВЕДЕНИЮ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ (ОБЗОР)

Чапленко А.А., Меркулова О.В., Олефир Ю.В.

ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, Москва, Россия

В настоящее время опубликован и обсуждается проект федерального закона «О биомедицинских клеточных продуктах (БМКП)». Принятие данного закона позволит урегулировать сферу разработки и применения продуктов, включающих в себя клеточные линии человека. Для минимизации рисков применения БМКП в клинической практике важна адекватная оценка безопасности в ходе доклинических испытаний (ДИ).

Иммунологические различия между видами являются главной сложностью, с которой сталкиваются при использовании животных моделей в ДИ БМКП. Человеческие клетки будут неизбежно вовлечены во взаимодействие с иммунной системой биологических тест-систем, а использование иммунодефицитных животных не позволяет корректно оценить аллергенность и иммуногенность БМКП.

Вышеописанную проблему возможно решить путем использования аллогенных или аутологичных (в зависимости от препарата) животных клеток, полностью имитирующих исследуемый препарат. В этом случае необходимо, чтобы дизайн ДИ был идентичен клиническим испытаниям, насколько это возможно (возраст животного, хирургические процедуры). Данный подход зафиксирован в методических рекомендациях регуляторных органов ЕС и США. С применением гомологичных продуктов возможно изучение биораспределения, острой и хронической неспецифической токсичности исследуемого препарата, однако, туморогенность необходимо изучать исключительно на человеческих клеточных линиях. При проведении ДИ БМКП уместно также использование комбинированного подхода – *in vitro* и *in vivo* тестов. Другим важным моментом является применение сокращенной процедуры ДИ (например, включающей только *in vitro* тесты) для продуктов, уже применявшихся в клинической практике (например, препарат Holoclar®).

Таким образом, опираясь на опыт зарубежных коллег, можно заключить, что в сфере регулирования разработки БМКП целесообразно, особенно на начальных этапах, использовать прецедентный подход – определять перечень необходимых ДИ в ходе дискуссий между регуляторными органами и компаниями-разработчиками.



КОМПОЗИТНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ ВОССТАНОВ- ЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕННЫХ УЧАСТКОВ ГИАЛИ- НОВОГО ХРЯЩА СУСТАВНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ

ЧЕРНОНОСОВА В.С.^{1,2}, СТЕПАНОВА А.О.^{1,2},
ГОДОВИКОВА Т.С.², НАУМЕНКО О.Б.², БУЛАТОВ К.А.³,
ПАТРУШЕВ А.Ю.³, МАЙБОРОДИН И.В.³, ШЕВЕЛА А.И.³,
ШЕВЧЕНКО А.И.¹, ЛАКТИОНОВ П.П.^{1,2}

1 – ННИИПК имени ак. Е.Н. Мешалкина,

2 – ИХБФМ СО РАН

3 – ЦНМТ, Новосибирск

Актуальность. Регенерация хряща суставных поверхностей суставов является одной из приоритетных задач тканевой инженерии. Предложено много протоколов и материалов для решения этой задачи, однако некоторые аспекты, включая адгезию имплантов, оссцификацию, формирование фиброзной ткани и регенерацию хрящевой ткани в поврежденном участке, а также скорость восстановления функции сустава нуждаются в улучшении. Материалы и методы. Плоские матриксы (ПМ) из нейлона 6, сополимера молочной и гликолевой кислот, смесей синтетических полимеров с желатином были изготовлены методом электроспиннинга. Метакриловая группа была введена в состав хондроитин-4 сульфата и желатина в реакции с глицидил метакрилатом. Для фотополимеризации использовали фотоинициатор Darocur 2959 и фотодиодный источник света МТЕ U 301 (365 нм). Хондоробласты человека (ХБЧ) получали из операционного материала и культивировали в среде DMEM:F12 с 10-15% ЭТС, антибиотиками и хондрогенными добавками. Дифференцировку клеток подтверждали при помощи иммунофлуоресценции и количественной ОТ-ПЦР. Комбинированный материал имплантировали в поврежденный участок мышечка бедренной кости коленного сустава кролика. Состоятельность импланта оценивали через 1 и 3 месяца при помощи гистологического исследования.

Результаты. Для восстановления повреждения гиалинового хряща предложен комбинированный материал, состоящий из ПМ, и фиксирующей их в поврежденном участке фотополимеризуемой композиции. Компоненты композиции и гель не токсичны для ХБЧ, однако ХБЧ не пролиферируют в гомогенном геле, но пролиферируют на поверхности ПМ. Обзорная микроскопия и гистологическое исследование показали прочность и биосовместимость импланта с окружающим хрящом с тенденцией к формированию нормальной хрящевой ткани в месте повреждения.

Выводы. Предложена перспективная технология, которая может иметь большой потенциал развития – введение биологически активных веществ в состав матриксов и интрооперационное введение клеток хрящевой ткани.



ПОЛУЧЕНИЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МАТРИКСА ПЕЧЕНИ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Шагидулин М.Ю.^{1,2}, Онищенко Н.А.¹, Крашенинников М.Е.²,
Немец Е.А.¹, Григорьев А.М.¹, Бабий Е.В.¹,
Ильинский И.М.^{1,2}, Можейко Н.П.¹, Боброва М.М.³,
Сафонова Л.А.³ Аврамов П.В.¹, Севастьянов В.И.¹,
Готье С.В.^{1,2}

1 – ФГБУ «ФНЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России,
Москва.

2 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России,
Москва.

3 – МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Актуальность: В настоящее время для длительной компенсации функции поврежденного органа используются имплантируемые клеточно-инженерные конструкции (КИК). Ключевым вопросом создания эффективных КИК является разработка матриксов (каркасов), позволяющих доставлять специфические клетки в орган, требующий коррекции, и обеспечивать их длительное функционирование в нем.

Цель: разработать доступный, дешевый и универсальный способ получения матрикса, сохраняющего нативные свойства и тканеспецифичность, который может быть использован для изготовления имплантируемых КИК печени.

Материалы и методы: Работа выполнена на 40 крысах-самцах породы Вистар (200±20гр). Децеллюляризацию печени проводили перфузионным методом. Далее осуществляли получение мелкодисперсного нативного матрикса из децеллюляризированной печени (МНМДП) по оригинальной методике (патент РФ на изобретение № 2539918 от 21.01.2015). Проводили изучение свойств МНМДП: – функциональную оценку тканеспецифичности мелкодисперсных матриксов методом Mossman; гистологические исследования; сканирующую электронную микроскопию.

Результаты: В МНМДП установлена сохранность пространственной микроструктуры ткани печени и отсутствие в ней клеток; внеклеточный матрикс сохраняет свой структурный остов; на волокнах внеклеточного матрикса присутствуют белковые молекулы, предопределяющие специфические свойства МНМДП. Посев клеток НерG2 клеток печени и МСК КМ аллогенных доноров на МНМДП – показал, что клетки различных фенотипов прикреплялись и распластывались на матриксе после 5 суток культивирования.

Выводы: мелкодисперсный матрикс из децеллюляризированной печени сохраняет гепатоспецифичность и выраженную адгезивность. Этот матрикс может быть использован для изготовления имплантируемых и длительно функционирующих клеточно-инженерных конструкций вспомогательной печени, а также для их последующего использования при коррекции и лечении печёночной недостаточности.



ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТЕРОНА КЛЕТКАМИ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА В РАННЕМ ПРЕНАТАЛЬНОМ ОРГАНОГЕНЕЗЕ И ПОСТНАТАЛЬНОМ РЕГЕНЕРАТОРНОМ ГИСТО- ГЕНЕЗЕ

ШАПОВАЛОВА Е.Ю., БОЙКО Т.А., БАРАНОВСКИЙ Ю.Г.,
ИЛЬЧЕНКО Ф.Н.

ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского», Симферополь, Россия

Известно, что в постнатальном периоде кожа является гормонзависимым органом, но обнаружить рецепторы половых гормонов не удается. По данным литературы большое значение в развитии келоидных рубцов имеют нарушения функции желез внутренней секреции, в частности половых желез. Изучены 112 зародышей и плодов человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития и биопсийный материал молодых келоидных рубцов, взятых у 15-ти пациентов хирургического отделения КРУКБ им. Н.А. Семашко и ЦРБ Симферопольского района с целью изучения присутствия клеток с рецепторами эстрогенов и прогестерона. Иммуногистохимические реакции проводили в парафиновых срезах с использованием соответствующих первичных антител к рецепторам эстрогенов (клон PdR636 фирмы DAKO) и прогестерона (клон 1D5 фирмы DAKO) и системы визуализации En vision (DAKO). Индекс эстроген- и прогестерон-позитивных клеток определяли путем подсчета количества таких клеток на 100 клеток соответствующих структур кожи. Получено, что эмбриональный органогенез кожи регулируется эстрогенами и прогестероном. Прогестерон важен на самых ранних этапах развития. До 46 суток (зародыши 17 мм длины) количество прогестерон-позитивных клеток увеличивается, а затем сохраняется примерно на одном уровне. Клетки с рецепторами эстрогенов обнаружены у зародышей, начиная с возраста 46 суток (17 мм длины), во всех структурах развивающейся кожи. С возрастом количество таких клеток слабо (около 3%) нарастает. Среди клеток эпидермиса келоидных рубцов обнаружены клетки с рецепторами к гормону эстрогену. Индекс таких клеток составляет $39,6 \pm 0,01\%$ у лиц обоего пола (мужчин было 7). Возможно, именно экспрессия рецепторов эстрогенов, имеющаяся в клетках кожи до рождения, является одним из ключевых факторов келоидообразования.

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ

ШЕВЕЛЕВА О.Н., РАМАЗАНОВА С.Г.

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



Мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются перспективным источником клеток для регенерации различных тканей. Они легко выделяются и могут быть размножены *in vitro*, способны к миграции, обладают трофической активностью и уникальными иммуносупрессивными свойствами. Целью данной работы было изучить механизм участия МСК в регенерации мышечной ткани.

В работе использовались МСК из костного мозга крыс породы Вистар. *In vitro* были изучены: 1) их способность дифференцироваться в мышечные клетки в индукционных средах на основе дексаметазона или 5-азациитидина и в средах, кондиционированных мышечными клетками, 2) возможность меченных GFP МСК сливаться с миообластами, 3) паракринное влияние МСК на миогенную дифференцировку при культивировании МСК и мышечных клеток через полупроницаемую мембрану. *In vivo* влияние МСК на регенерацию изучено на модели подкожного введения измельченных мышц и на модели механического повреждения.

При культивировании МСК в индукционных средах и в средах, кондиционированных мышечными клетками, миотубы не формировались и экспрессии мышечного маркера MyoD не наблюдалось. В совместных культурах образование меченных миотуб, свидетельствующих о слиянии меченных МСК и миобластов, наблюдалось в единичных случаях. Культивирование клеток из скелетных мышц совместно с МСК или в среде от них приводило к усилению миогенеза – увеличению скорости образования и числа миотуб. Эксперименты *in vivo* показали, что на ранних стадиях регенерации мышц введение МСК усиливает ангиогенез и миогенез, на более поздних – препятствует образованию соединительно-тканного рубца. Однократное введение среды, кондиционированной МСК, в поврежденные мышцы приводит к уменьшению воспаления в опытных образцах по сравнению с контрольными. Таким образом, МСК оказывают положительное влияние на миогенную дифференцировку и регенерацию скелетных мышц, которое, в большей степени, осуществляется за счет паракринной секреции ими факторов, стимулирующих миогенез, а не за счет дифференцировки МСК в миообласты или их слияния с последними.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРО- ФАГОВ И ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ НА ФОНЕ КОЛЕБАНИЙ ЭНДОГЕННЫХ БИОГЕННЫХ АМИНОВ

Шорников А.И.

ФГБОУ ВПО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова»

Актуальность. Плацентарная ткань часто применяется для клеточной и тканевой терапии. Введение чужеродного в организм сопровождается нейрососудистой реакцией реципиента с выделением биогенных аминов и изменением функционального состояния клеточных и стромальных структур. Раскрытие механизмов регуляции этих процессов позволит решить фундаментальные проблемы регенеративной медицины.

Цель – изучение функциональной активности макрофагов и тучных клеток плаценты



на фоне колебаний уровня эндогенных биогенных аминов при гестозе.

Материал и методы. Исследованы 34 плаценты, разделенные на 4 серии: в первой – от 9 женщин с легким течением гестоза, во второй – от 10 женщин с средней степенью тяжести, в третьей – от 8 женщин с тяжелой степенью течения гестоза, в контрольной – от 7 женщин с физиологическим течением беременности и родов. Биогенные амины выявлялись методами Фалька и Кросса. Иммуногистохимически идентифицировались макрофаги (CD-68) и тучные клетки (триптаза). Функциональная активность макрофагов определялась люминесцентно гистохимическим методом по Карнаухову.

Результаты. Установлено, что уровень биогенных аминов (гистамина и серотонина), численная плотность макрофагов и экспрессия триптазы повышается во всех структурах плаценты по мере нарастания тяжести течения гестоза. При этом отмечается выраженный дисбаланс соотношений гистамина и серотонина с преобладанием гистамина. Наиболее высокие концентрации биогенных аминов определяются в материнской части плаценты. Наряду с повышением концентрации биогенных аминов происходит активация макрофагов и тучных клеток со сменой их гистотопографии. Динамика изменений уровня гистамина и экспрессия триптазы четко коррелируется между собой. Выявлена обратная зависимость послеродовой топографии экспрессии CD68 и триптазы (и гистамина) в плаценте. Это свидетельствует о тесном взаимодействии тучных клеток и макрофагов в механизмах регуляции морфофункционального состояния плаценты. Появление триптазы и гистамина в межворсинчатом пространстве при осложнениях беременности свидетельствует о срыве этих механизмов. Вопрос о происхождении триптазы и эндогенных биоаминов в структурах плаценты остается открытым, необходимы дальнейшие исследования.

ГЕНО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ КОРОНАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В ЭКСПЕРИ- МЕНТЕ.

ШУМАН Е.А., МАКЕЕВ О.Г., КОРОТКОВ А.В.

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Мини-
стерства здравоохранения Российской Федерации, ЕкатеринбургГАУЗ
СО Институт медицинских клеточных технологий Екатеринбург

Перспективным направлением лечения коронарной недостаточности представляется разработка технологии генотерапии. Однако введение отдельных генов не сопровождалось значимым клиническим эффектом. Неэффективность моногенной терапии обусловлена тем, что в образовании полноценной сосудистой сети принимают участие продукты, кодируемые более чем тридцатью генами. Целью исследования явился поиск путей достижения полноценного неоангиогенеза за счет активации комплекса факторов роста, участвующих в ангиогенезе.

Материалы и методы. В работе были использованы плазмидные векторы HA-HIF1alpha-pcDNA3 (Addgene plasmid # 18949), HA-HIF2alpha-P405A/P531A-pcDNA3 (Addgene plasmid # 18956), pWZL Blast VEGF (Addgene plasmid # 10909) и pGL3-VEGFR2-225 (Addgene plasmid # 21306) соответственно. Кроликам породы Шиншилла на фоне неполной окклюзии передней



нисходящей артерии сердца интрамиокардиально однократно вводили встроенные в векторы гены факторов роста VEGF165 (группа №1), а второй группе одновременно однократно комплекс четырех генов из расчета 50 мкг/см² Уровень ангиогенеза оценивали на 30-е сутки методом внутрисосудистой инъекции контрастными взвесями с последующей гистологической обработкой, уровень рО₂ оценивали полярографическим методом. Кроме того животным проводили нагрузочную пробу с дипиридамолом и снимали электрокардиограмму.

Результаты. Полученные результаты свидетельствуют о том, что трансфекция геном VEGF-165 сопровождается развитием микроциркуляторного русла и повышением рО₂ в зоне ишемии по сравнению с контролем. Однако трансфекция клеток комбинацией четырех генов оказывает более выраженный эффект. Кроме того, в последнем случае формируется полноценное сосудистое русло и наблюдается нормализация метаболических процессов, о чем свидетельствует динамика изменения электрокардиограммы в ходе выполнения нагрузочной пробы.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Юдинцева Н.М., Нащекина Ю.А., Блинова М.И.,
Орлова Н.В., Виноградова Т.И., Муравьев А.Н.

ФГБУН ИНЦ РАН, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность: в настоящее время для реконструкции нефункционирующего мочевого пузыря применяются операции по его замещению фрагментами ЖКТ, что приводит к осложнениям. Возрастающий интерес к регенерации органов приводит к внедрению в практику новых клеточных технологий.

Цель: целью исследования является разработка и создание тканеинженерной клеточной конструкции, способствующей восстановлению поврежденной ткани пузыря кролика.

Материалы и методы: для приготовления тканеинженерной конструкции использовали смесь полимера молочной кислоты и фиброина шелка, а в качестве клеточной составляющей – мезенхимальные стромальные клетки костного мозга. Эффективность восстановления поврежденной ткани после использования конструкции оценивали на модели парциальной резекции мочевого пузыря кролика. Прижизненное исследование процесса интеграции конструкции с нативной тканью оценивали с помощью магнитно-резонансной томографии. Характер восстановления ткани на месте трансплантации конструкции оценивали путем проведения гистологического и иммуногистохимического анализа.

Результаты: Данные МРТ свидетельствовали о том, что произошла интеграция конструкции с нативной тканью МП. Гистологический анализ показал, что при внесении конструкции, содержащей МСК, наблюдалась регенерация слизистой оболочки, подслизистой оболочки и адвентициальной оболочки стенки МП. Внесение конструкции вызывало невысокой степени воспалительного процесса, который не распространялся на окружающие ткани.



Выводы: Была разработана конструкция, способствующая процессу восстановления поврежденной ткани пузыря на модели кролика, что позволит создавать и применять подобные технологии для использования в клинической практике с целью восстановления ткани мочевого пузыря человека.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Юдинцева Н.М., Нащекина Ю.А., Блинова М.И.,
Орлова Н.В., Виноградова Т.И., Муравьев А.Н.

ФГБУН ИНЦ РАН, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность: в настоящее время для реконструкции нефункционирующего мочевого пузыря применяются операции по его замещению фрагментами ЖКТ, что приводит к осложнениям. Возрастающий интерес к регенерации органов приводит к внедрению в практику новых клеточных технологий.

Цель: целью исследования является разработка и создание тканеинженерной клеточной конструкции, способствующей восстановлению поврежденной ткани пузыря кролика.

Материалы и методы: для приготовления тканеинженерной конструкции использовали смесь полимера молочной кислоты и фиброина шелка, а в качестве клеточной составляющей – мезенхимальные стромальные клетки костного мозга. Эффективность восстановления поврежденной ткани после использования конструкции оценивали на модели парциальной резекции мочевого пузыря кролика. Прижизненное исследование процесса интеграции конструкции с нативной тканью оценивали с помощью магнитно-резонансной томографии. Характер восстановления ткани на месте трансплантации конструкции оценивали путем проведения гистологического и иммуногистохимического анализа.

Результаты: Данные МРТ свидетельствовали о том, что произошла интеграция конструкции с нативной тканью МП. Гистологический анализ показал, что при внесении конструкции, содержащей МСК, наблюдалась регенерация слизистой оболочки, подслизистой оболочки и адвентициальной оболочки стенки МП. Внесение конструкции вызывало невысокой степени воспалительного процесса, который не распространялся на окружающие ткани.

Выводы: Была разработана конструкция, способствующая процессу восстановления поврежденной ткани пузыря на модели кролика, что позволит создавать и применять подобные технологии для использования в клинической практике с целью восстановления ткани мочевого пузыря человека.



МЕСТНАЯ ТКАНЕВАЯ РЕАКЦИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОЖГОВОЙ РАНЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Юнаш С.С., Дудинская А.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра топографической анатомии и оперативной хирургии
Научный руководитель – ассистент Кудло В.В.

На ожоги приходится около 3–5% всех травм. На рост числа ожогов оказывают влияние научно-технический прогресс, увеличение возможных источников термического поражения, неблагоприятный социально-психологический фон. Лечение ожогов имеет долгую историю, однако методы, средства и тактика лечения до настоящего времени остаются одной из актуальных проблем современной медицины.

Цель исследования – провести морфологическую оценку способов лечения ожоговых ран в эксперименте с использованием низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и коллаген-фурацилинового геля.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на белых лабораторных крысах (18 особей), массой 250–300г. Под кетаминным наркозом после подготовки операционного поля производилось моделирование ожоговой раны кожи II–III степени, площадью 1см², при помощи раскаленного до 280оС металлического стержня. Животные разделялись на 3 группы: контрольная, 1 опытная и 2 опытная. В 1 опытной группе на следующий день после моделирования производилось нанесение на раневую поверхность фурацилин-коллагенового геля. После этого производилось однократное облучение раневой поверхности НИЛИ красного спектра с экспозицией 5 минут ($\lambda = 0,67 \pm 0,02$ мкм), а затем синего спектра света с экспозицией 10 минут ($\lambda = 0,47 \pm 0,03$ мкм). Во 2 опытной группе рана обрабатывалась только фурацилин-коллагеновым гелем. Животные выводились из эксперимента на 7, 14 и 21 сутки. Производился забор участка кожи с ожоговой раной для последующего приготовления микропрепаратов и исследования световым микроскопом.

Результаты. При микроскопии на 7 сутки в контрольной группе у 100% животных в зоне ожога определялся коагуляционный некроз эпителия, под ним отек, лейкоцитарная инфильтрация. На 7 сутки в 1 опытной группе у всех животных – гнойное воспаление выражено слабее, грануляционная ткань представлена более интенсивно. Во 2 опытной группе в области раны определялся детрит с выраженной лейкоцитарной инфильтрацией и разрастанием неспецифической грануляционной ткани.

На 14 сутки в контрольной группе в области дна раны определялась неспецифическая грануляционная ткань. В 1 опытной группе у 100% животных в области раны определялся детрит с обилием нейтрофилов, под ним – неспецифическая грануляционная ткань. Во 2 опытной группе количество детрита в ране по сравнению с предыдущей группой меньше, склеротические изменения выражены слабее.

На 21 сутки в контрольной группе в дне раны – детрит, инфильтрированный нейтрофилами, под ним – неспецифическая грануляционная ткань. В 1 опытной группе определялась корочка, под ней в дерме – разрастания неспецифической грануляционной ткани, преобладали фибробласты с формирующимися коллагеновыми волокнами. Во 2 опытной



группе на дне язвы отмечалась густая лейкоцитарная инфильтрация. Грануляционная ткань и коллагенообразование выражено в меньшей степени.

Таким образом, исходя из вышеперечисленного можно сделать выводы:

1. При глубоких ожогах 2-3А степени целесообразно проводить лечение ожогов открытым способом.
2. Применение НИЛИ в комбинации с фурацилин-коллагеновым гелем вызывает менее выраженное воспаление в области ожоговой раны.

ИММУННАЯ СИСТЕМА И РЕГУЛЯЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ

Юшков Б.Г., Черешнев В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

В настоящее время роль иммунной системы в регуляции репаративных процессов не вызывает сомнений. Однако значение отдельных ее элементов для восстановления повреждения остается предметом дискуссии.

В экспериментах по регенерации системы крови, печени, почек, мочевого пузыря проведены исследования по влиянию макрофагов, лимфоцитов, тучных клеток на восстановление структуры поврежденных органов.

При использовании формирующейся в процессе воспаления вокруг инородного тела соединительнотканной капсулы для протезирования сосудов, кости мочевого пузыря на ее основе формируются полноценные структуры поврежденного органа.

В физиологических условиях макрофаги концентрируются в ростковых зонах ткани. Они способны влиять на миграцию стволовых гемопоэтических клеток из костного мозга в поврежденный орган и определяют направление их дифференцировки. Последнее во многом зависит от фагоцитарной активности макрофагов и природы фагоцитируемых объектов.

На примере регенерирующей печени показано, что передача морфогенетического сигнала спленocyтaми и тимоцитами и его характер обусловлены разными клетками иммунной системы: внутриклеточный тип регенерации преимущественно независимыми от макрофагов Т-лимфоцитами, а клеточный – макрофагами и зависимыми от них лимфоцитами. При этом существенную роль играет функциональное состояние лимфоидных клеток регенерирующей ткани. Активация функции иммунной защиты Т-лимфоцитов приводит к уменьшению их способности стимулировать клеточный тип регенерации, а значит между морфогенетической и иммунной функциями имеют место реципрокные взаимоотношения.

При оценке влияния тучных клеток на регенерацию установлено, что оно может быть опосредовано как через гистамин, так и практически через весь спектр продуцируемых ими кислых гликозаминогликанов – ГАГ: гепарин, хондроитинсульфаты А, В, глюкуроно-



вую кислоту. При этом в качестве одной из точек приложения их действия выступают фибробласты.

THE POST-TRAUMATIC SYRINGOMYELIA MANAGEMENT AND FUNCTIONAL IMPROVEMENT OF CHRONIC SPINAL CORD INJURY BY MESENCHYMAL STEM CELLS

CHAO ZHANG^{1,2}, PAVEL A. MELNIKOV², ANNA N. GABASHVILY²,
ANNA YU. MOROZOVA³, MAXIM A. ABAKUMOV², VLADIMIR P.
BAKLAUSHEV^{2,4} AND VLADIMIR P. CHEKHONIN^{2,3}

Chao Zhang,

1 – Tianjin Medical University, China;

2 – Pirogov Russian National Research Medical University;

3 – VP Serbsky Federal Medical Research Center of Psychiatry and
Narcology;

4 – Federal Research and Clinical Center FMBA of Russia.

Abstract Spinal cord injury (SCI) is a traumatic injury to the spinal cord which is not a consequence of the disease. During the chronic stage, 4–25% SCI cases are reported to be affected by post-traumatic syringomyelia (PTS). Mesenchymal stem cells (MSCs) have gradually become one of the most used treatment in both research and surgery for overcoming SCI. In order to figure out the effect of MSCs transplantation for the PTS management and functional improvement post chronic SCI, and the optimal cell number, we performed the present research. 24 adult Sprague-Dawley rats were used to create the chronic SCI models with post-traumatic syringomyelia. Animals were randomly divided into four groups according to the treatment (with 6 rats in each group): (1) the cell culture medium group (2) the 4×10^5 cells group (3) the 8×10^5 cells group and (4) the 1×10^6 cells group. Magnetic resonance imaging (MRI), diffusion tensor imaging (DTI), diffusion tensor tractography (DTT), immunohistochemistry, histological staining and behavior testing evaluations suggested the positive effect of varying numbers of MSCs on reducing lesion cavity and cyst formation, suppressing glial scar formation, enhancing neuronal fibers remodeling, promoting axonal regeneration and sprouting, improving vascularization, ameliorating the neuronal factors expression level, and function improvement. MSCs transplantation is a potential strategy for treating PTS post chronic SCI. The 1×10^6 cells was proved to be the optimal cell number in the present research.



ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ЦИТОКИНОВ С ТРОПНОСТЬЮ К КОСТНОЙ ТКАНИ

ЛЕБЕДЕВ Л.Р., Даниленко Е.Д., Волосникова Е.А.,
Телегина Ю.В., Зайцев Б.Н.

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Бердск, Россия Новосибирская область,
г. Бердск, ул. Химзаводская, 9

Разработан дизайн препаратов для лечения костных метастазов на основе рекомбинантных противоопухолевых цитокинов: фактора некроза опухолей альфа (ФНО- α) и аналога интерферона гамма человека (ИФН- γ , Дельтаферон). Препараты представляют собой молекулярные конструкции, содержащие дрожжевую двуспиральную рибонуклеиновую кислоту (дсРНК), покрытую оболочкой из конъюгата декстрана с цитокином (ФНО- α или ИФН- γ) и бисфосфонатом алендроновой кислотой. Особенностью конструкции является сочетание в одной структуре веществ, обладающих противоопухолевой активностью, и векторной молекулы (бисфосфонат), которая обеспечивает тропность белков к матриксу костной ткани. Отработаны условия конъюгирования и синтезированы конъюгаты ФНО- α , Дельтаферона и алендроновой кислоты с декстраном. Молекулярные конструкции получали методом самосборки, образовавшиеся комплексы отделяли гель-фильтрацией на сефарозе CL-6B. Анализ электрофоретическим методом в геле агарозы показал снижение подвижности дсРНК в комплексах с конъюгатами по сравнению с исходной дсРНК, что подтверждает факт образования конструкций. Методом просвечивающей электронной микроскопии подтверждено наличие в препаратах частиц с размерами 30–40 нм. Оценка методом сорбции/десорбции показала более высокое сродство конъюгатов ФНО- α и Дельтаферона к гидроксиапатиту, по сравнению с исходными белками. Оценка специфической активности цитокинов в культуре клеток L929 и L-68 показала, что удельная активность конъюгированных белков сохранялась на высоком уровне, хотя и снижалась по сравнению с активностью исходного белка: для конъюгата ФНО- α – $6 \cdot 10^6$ МЕ/мг и $8 \cdot 10^7$ МЕ/мг, соответственно; для конъюгата Дельтаферона – $6,4 \cdot 10^5$ МЕ/мг и $1,3 \cdot 10^6$ МЕ/мг. Полученные данные подтверждают возможность получения биологически активных препаратов цитокинов с повышенной тропностью к матриксу костной ткани.

Данная публикация подготовлена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», Соглашение о предоставлении субсидии № 14.604.21.0061 от 27.06.2014. Уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI60414X0061.



СОДЕРЖАНИЕ

3

ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННОГО КОЖНОГО ЛОСКУТА

Абдрахманова С.А., Балтабаева Т.С., Оспанова М.Е., Каримов Г.М., Буркитбаев Ж.К.

4

НАНОВОЛОКОННЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ БИОИМПЛАНТЫ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ СУХОЖИЛИЙ, ПОЛУЧЕННЫЕ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЯ

Аббасов Т.А.¹, Горбачев Д.П.^{2,3}, Фадеева И.С.^{2,3}, Сенотов А.С.², Фадеев Р.С.^{2,3}, Фесенко
Н.И.³, Ольхов А.А.⁴, Гурьев В.В.¹, Акатов В.С.^{2,3}

5

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК НА КОМПО- НЕНТЫ АТОПИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ IN VIVO

Айзенштадт А.А.¹, Петров А.В.², Супильникова О.В.¹, Самойлович М.П.³, Климович
В.Б.³

6

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФАКТОРА РОСТА КОСТНОЙ ТКАНИ НА ЭТАПАХ ПОДГОТОВКИ БЕЛЫМ К КЕРАТОПРОТЕЗИ- РОВАНИЮ.

Андреев А.Ю.¹, Осидак Е.О.², Карягина А.С.⁵,
Зайратьянц О.В.⁴, Домогарский С.П.^{2,3}, Захаров В.Д.¹

7

ПАТТЕРН ДЕСТРУКТИВНО-РЕГЕНЕРАТИВНОГО ОТВЕТА ЭНДОТЕЛИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В ПЕРВЫЕ 48 ЧАСОВ ЛАКУНАРНОГО ИНФАРКТА МОЗГА

Анацкая Л.Н.¹, Гончарова Н.В.², Хулуп Г.Я.²,

8

РОЛЬ ИСХОДНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБО- ЦИТОВ В РЕПАРАТИВНОМ ПРОЦЕССЕ ПРИ КРУПНОЙ ХИРУР- ГИЧЕСКОЙ ОПЕРАЦИИ

Антропова И.П.¹, Юшков Б.Г.^{2,3}

9

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЙ СОСУДИСТЫЙ ИМПЛАНТ: ЭКСПЕРИМЕН- ТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Антонова Л.В.¹, Миронов А.В.², Бураго А.Ю.¹,
Матвеева В.Г.¹, Сергеева Е.А.¹, Великанова Е.А.¹, Глушкова Т.В.¹, Барбараш О.Л.¹,
Барбараш Л.С.¹



9 ЭКСПРЕССИЯ AGTR1 ХАРАКТЕРИЗУЕТ МСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ, КОММИТИРОВАННЫЕ В АДИПОГЕННОМ НАПРАВЛЕНИИ

АГЕЕВА Л.В., СЫСОЕВА В.Ю., КАЛИНИНА Н.И., ТЮРИН-КУЗЬМИН П.А., ФАДЕЕВА Ю.И., ШАРОНОВ Г.В., ТКАЧУК В.А.

10 ОСОБЕННОСТИ ОТВЕТА ММСК НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

УДАРЦЕВА О.О.¹, ЖИДКОВА О.В.¹, БУРАВКОВ С.В.²

11 ПРОАНГИОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА ЧЕЛОВЕКА: ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO

АРУТЮНЯН И.В.^{1,2}, КАНАНЫХИНА Е.Ю.^{1,2}, МАКАРОВ А.В.^{1,2}

12 ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

АСКАРОВ М.Б., ФЕДОТОВСКИХ Г.В., ШАЙМАРДАНОВА Г.М., ЖАКУПОВА А.Х.

13 РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПАЦИЕНТАМ С БЫСТРО ПРОГРЕССИРУЮЩИМИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ

АВЕРЬЯНОВ А.В., КОРОЛЕВА И.А., КОНОПЛЯНИКОВ М.А.

14 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЛАПЛАНТА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ МИОКАРДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ

АФАНАСЬЕВ С.А., КОНДРАТЬЕВА Д.С., МАРКОВА Н.К., ПОПОВ С.В., ЛЕБЕДЕВА* А.И., МУСЛИМОВ* С.А.

15 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗРАБОТАННОГО КЛЕТОЧНО-ТКАНЕВОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОЖИ

АЛЕЙНИК Д.Я., БУГРОВ С.Н., ЧАРЫКОВА И.Н., СИДОРОВА Т.И., ПОГОДИН И.А., ДОКУКИНА Л.Н., СТРУЧКОВ А.А., КУЛАКОВА К.В.



- 16** **ОСТЕОГЕННАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ПОЛИЛАКТИДНЫХ МАТРИЦ АХ**
АЛЕКСАНДРОВА С.А., НИКОНОВ П.О., НАЩЕКИНА Ю.А.
- 17** **ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И АДГЕЗИВНОСТИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ ДЛЯ КЛЕТОК ОСТЕОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**
АЛЕКСАНДРОВА С.А.¹, БЛИНОВА М.И.¹, КАСЬЯНОВА Е.С.², ВИШНЕВСКИЙ А.А.³, ГОРДЕЕВ С.К.⁴
- 18** **ПРИМЕНЕНИЕ ТРОМБОЦИТАРНОЙ АУТОЛОГИЧНОЙ ПЛАЗМЫ В МЕДИЦИНЕ. ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ**
АХМЕРОВ Р., ЗАРУДИЙ Р., КОРОТКОВА О., ОВЕЧКИНА М., ГУСЕВА В., ОБОЛЕНСКИЙ В.
- 19** **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОК СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И ГИПОКСИИ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ EX VIVO ЭКСПАНСИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**
АНДРЕЕВА Е.Р., АНДРИАНОВА И.В., ГОРНОСТАЕВА А.Н., СОТНЕЗОВА Е.В., ЛОБАНОВА М.В., БУРАВКОВА Л.Б.
- 20** **ВЛИЯНИЕ МЕСТА ТРАНСПЛАНТАЦИИ НА МОРФОЛОГИЮ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОГО ЭКВИВАЛЕНТА ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ (ХЭ)**
БАТУХТИНА Е.В.³, КИСЕЛЕВА Е.В.^{1,2}, ТЕРСКИХ В.В.¹
- 21** **ПИЛОТНОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ СО СПИНАЛЬНОЙ ТРАВМОЙ: РЕЗУЛЬТАТЫ 6 МЕСЯЧНОГО НАБЛЮДЕНИЯ**
О.В. Дуров, А.В. Аверьянов В.П. Баклаушев, М.А. Тихоновский, (Россия) JE Ahlfors (CANADA)
- 22** **ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ФРАКЦИЙ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ДЛЯ ВОЗМОЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ**
БЕГИМБЕТОВА Д.А.¹, С.Б. ОРАЗОВА Д.М.², БАЙСХАНОВА А.А.¹, СЕЙТАК К.Н.¹, МЕРИНЯНУ¹



- 23** **«МЕТИЛИРОВАНИЕ ОНКОСУПРЕССОРНЫХ ГЕНОВ MIR-132 И MIR-137 ПРИ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ПОЧКИ»**
БЕРЕСНЕВА Е.В., ПРОНИНА И.В., ХОДЫРЕВ Д.С., БРАГА Э.А., ЛОГИНОВ В.И.
- 24** **ИЗУЧЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ СПОСОБНОСТИ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА КОЛЕННОГО СУСТАВА КРЫСЫ.**
БОЖОКИН М.С., БОЖКОВА С.А., НАКОНЕЧНЫЙ Д.Г.,
НЕТЫЛЬКО Г.И., РУМАКИН В.П.
- 25** **МСК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ НЕ ПРОВОЦИРУЮТ АКТИВАЦИЮ АЛЛОГЕННЫХ ЛИМФОЦИТОВ**
БОБЫЛЕВА П.И., ГОРНОСТАЕВА А.Н., АНДРЕЕВА Е.Р.,
БУРАВКОВА Л.Б.
- 26** **ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И ЭРИТРОПОЭТИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФИБРОБЛАСТОВ И МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК**
БОНДАРЕНКО Н.А.^{1,2}, ЛЫКОВ А.П.^{1,2}, НИКОНОРОВА Ю.В.¹, СУРОВЦЕВА М.А.^{1,2}, ПОВЕЩЕНКО О.В.^{1,2}, ПОВЕЩЕНКО А.Ф.^{1,2}, ПОКУШАЛОВ Е.А.², РОМАНОВ А.Б.², КОНЕНКОВ В.И.¹
- 27** **ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ ИММУНОМОДУЛЯТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ**
БУРАВКОВА Л.Б., ГОРНОСТАЕВА А.Н., АНДРЕЕВА Е.Р.
- 28** **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**
БОРСАКОВА Д.В., ПРОТАСОВ Е.С., АЛЕКСАНДРОВИЧ Ю.Г.,
ВУЙМО Т.А., СИНАУРИДЗЕ Е.И., АТАУЛЛАХАНОВ Ф.И.
- 28** **МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПАКЛИТАКСЕЛА НА СЕМЕННИКИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПУТИ ЕГО СНИЖЕНИЯ**
БОРОВСКАЯ Т.Г., ДЫГАЙ А.М., ЖДАНОВ В.В.,
ЧАЙКОВСКИЙ А.В., КАМАЛОВА С.И., ГРИГОРЬЕВА В.А., ПОЛУЭКТОВА М.Е., ВЫЧУЖАНИНА А.В.



- 29** **СВОЙСТВА МЫШЕЧНЫХ АЛЛОПЛАНТОВ ОТ ПОГИБШИХ КРЫС-ДОНОРОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕ-НЕ ЛАЗЕРА НА ОБЛАСТЬ АЛЛОПЛАСТИКИ У РЕЦИПИЕНТА**
Булякова Н.В., Азарова В.С.
- 30** **АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОЖИ НА МОДЕЛИ ПОЛНОСЛОЙНОЙ КОЖНОЙ РАНЫ**
Бочарова Т.В., Паюшина О.В., Рахманинова Д.Д.,
Буторина Н.Н., Березина А.А., Шевелева О.Н., Домарацкая Е.И.
- 31** **ГЕН-АКТИВИРОВАННЫЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ – НОВЫЙ ТРЕНД В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ**
Бозо И.Я.^{1,2,3}, Дробышев А.Ю.², Рожков С.И.², Воложин Г.А.², Комлев В.С.⁴, Исаев А.А.¹,
Деев Р.В.^{1,5}
- 32** **ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**
Бузян Л.О., Рябинин В.Е.
- 33** **25-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕРМАЛЬНОГО ЭКВИВАЛЕНТА: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**
Блинова М.И., Никольский Н.Н., Михайлова Н.А.
- 34** **О КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ ЛЕЧЕНИЯ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ НОГ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ**
Василевич И.Б.¹, Баранов Е.В.², Пинчук С.В.¹, Третьяк С.И.², Волотовский И.Д.¹
- 35** **ПОСТНАТАЛЬНЫЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ-ПРОИЗВОДНЫЕ НЕРВНОГО ГРЕБНЯ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ**
Васильев Р.Г.^{1,2}, Родниченко А.Е.^{1,2}, Лысенко А.С.³,
Рыбачук О.А.^{1,2}, Демидчук А.С.³, Шамало С.Н.³,
Зубов Д.А.^{1,2}, Клименко П.П.¹, Губарь О.С.², Злацкая А.В.^{1,2}, Лабунец И.Ф.¹, Новикова С.Н.¹, Чайковский Ю.Б.³,
Бутенко Г.М.¹



- 36** **КУЛЬТИВИРОВАНИЕ СПЕРМАТОГОНИЙ ХРЯКА В МЕТИЛСЕЛ-
ЛЮЛОЗЕ**
ВАСИЛЬЕВА С.А., САВЧЕНКОВА И.П.
- 37** **ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ
ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С ИСПРАВЛЕННЫМ
ГЕНОТИПОМ В ОБЛАСТИ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ
ТЕРАПИИ НА МОДЕЛИ КРЫС ЛИНИИ BRATTLEBORO**
ВАСЬКОВА Е.А.^{1,2,3}, МЕДВЕДЕВ С.П.^{1,2,3,4}, ШЕРСТЮК В.В.^{1,2,3}, НЕМУДРЫЙ А.А.^{1,2,3}, СОРОКИНА
А.Е.^{1,2,3}, ЕЛИСАФЕНКО Е.А.^{1,2,3}, ИВАНОВА Л.Н.¹, ЗАКИЯН С.М.^{1,2,3,4}
- 38** **ПОЛУЧЕНИЕ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ БОЛЕЗНЕЙ МОТОРНЫХ
НЕЙРОНОВ НА ОСНОВЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК
ЧЕЛОВЕКА**
ВАЛЕТДИНОВА К.Р., УСТЬЯНЦЕВА Е.И., МЕДВЕДЕВ С.П.,
ЗАКИЯН С.М.
ВАХРУШЕВ И.В.¹, КОМЛЕВ В.С.², ФЕДОТОВ А.Ю.², ПОПОВ В.К.³, АНТОНОВ Е.Н.³, МИРОНОВ
А.В.³, СУББОТ А.М.⁴, НОВИКОВ И.А.⁴, ЯРЫГИН К.Н.¹
- 40** **ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ
ЖИРОВОЙ ТКАНИ, ВЫДЕЛЕННОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
СИСТЕМЫ «MINISTEM»**
ВЕРЕМЕЕВ А.В., ПЕТКОВА М.А., ГРЕЦОВ Е.М., БОЛГАРИН Р.Н., КАЦ Н.Г.
- 41** **МОЧА, КАК ИСТОЧНИК СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ РЕГЕНЕРА-
ТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ**
ВАСЮТИН И.А., ЛЮНДУП А.В., КУЗНЕЦОВ С.Л.
- 42** **ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ PPARG В КАРДИАЛЬНЫХ
РЕГЕНЕРАТИВНЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ ПРИ
СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.**
ВОРОНОВА А.Д.^{1,2}, КУЛИКОВА Т.Г.¹, СТЕПАНОВА О.В.¹,
ВАЛИХОВ М.П.¹, САМКО А.Н.¹, ТЕРЕЩЕНКО С.Н.¹, МАСЕНКО В.П.¹
- 43** **ВЛИЯНИЕ ГЛУТАМИЛ-ТРИПТОФАНА НА ПРОЦЕСС ЗАЖИВ-
ЛЕНИЯ РАНЫ НА МОДЕЛИ НЕЗАЖИВАЮЩЕЙ РАНЫ
У КРОЛИКОВ**
ВОРОНКИНА И.В.¹, ШЕВЦОВ М.А.^{1,2}, СМАГИНА Л.В.¹, КУДРЯВЦЕВА Т.А.³, ПЕТЛЕНКО С.В.³



- 44** **ПРИНЦИПЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОДУКТОВ КЛЕТОЧНЫХ И ТКАНЕВЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ**
Волова Л.Т., Долгушкин Д.А., Гильмутдинова И.Р., Филимонов К.А.
- 45** **ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ОЦЕНКА МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ЛОСКУТАХ ПРИ МЕСТНОЙ КОЖНОЙ ПЛАСТИКЕ ПОСЛЕОЖОГОВЫХ РУБЦОВ С ПОМОЩЬЮ ТЕПЛОВИДЕНИЯ**
Воловик М.Г., Короткова Н.Л.
- 46** **РЕПАРАЦИЯ СЛИЗИСТОЙ ШЕЙКИ МАТКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЙОДОТИРОНИНОВ**
Власьева О.В.¹, Глушаков Р.И.², Прошин С.Н.³,
Тапильская Н.И.³
- 47** **ОСОБЕННОСТИ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА И КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГЕМОКОМПОНЕНТОВ В КОМБУСТИОЛОГИИ**
Высочин И.В.^{1,2}, Борисов В.С.²
- 48** **РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО КАСКАДА ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ В РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНИ, ОПОСРЕДОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛЬЮ**
Высоких М.Ю., Вишнякова П.А., Володина М.А., Марей М.В., Тарасова Н.В.
- 49** **ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРТИЛЬНОСТИ У ПАЦИЕНТОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ РОБОТ-АССИСТИРОВАННОЙ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ МИОМЭКТОМИИ**
Гудебская В.А., Кира Е.Ф., Политова А.К.
- 50** **ЭФФЕКТЫ ПАРАКРИННЫХ ФАКТОРОВ МЕЗИНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ НА ПАТОГЕНЕЗ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКИ/РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОРАЖЕНИЯ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА**
Гордеева А.Е., Темнов А.А., Новоселов В.И.



- 51** **СТИМУЛЯЦИЯ КОЛОНИЕОБРАЗОВАНИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ГОМОГЕНАТОМ ТРУТНЕВОЙ ЛИЧИНКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ЕГО ЭКСТРАЦИИ**
Горячева К.В.^{1,2}, Кейно В.В.¹, Смирнов И.В.¹, Бондарев А.А.¹, Шунк А.А.¹
- 52** **ПРОФИЛИРОВАНИЕ МКРНК (МИРНОМ) В ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ОЧАГАХ И ПЛАЗМЕ КРОВИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ ГЛУБОКОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ**
Гусар В.А., Тимофеева А.В., Санникова М.В., Хабас Г.Н., Франкевич В.Е., Бобров М.Ю.
- 53** **ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРА РОСТА СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ В МИОКАРДЕ ПОСЛЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЗОН ЛОКАЛИЗАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА**
Головнева Е.С., Рейдман В.Р.
- 54** **УСКОРЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ЗАЖИВЛЕНИЯ КОЖНЫХ ХИРУРГИЧЕСКИХ РАН ПОСЛЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЗОН ЛОКАЛИЗАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА**
Головнева Е.С.¹, Ревель-Муроз Ж.А.², Онищенко Н.А.¹, Омеляненко А.Г.¹
- 55** **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕЛИЗАТА ТРОМБОЦИТОВ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА БИОКОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛАХ**
Данилкович Н.Н.¹, Космачева С.М.¹, Деркачев В.С.², Игнатенко С.И.¹, Потапнев М.П.²
- 56** **КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА IN VITRO НА ОСНОВЕ НЕЙРАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДОНОРОВ С СИНДРОМОМ ДАУНА**
Дашинамаев Э.Б., Артюхов А.С., Васильев А.В.
- 56** **ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АНГИОГЕНЕЗ – ИННОВАЦИОННОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКИМИ БОЛЕЗНЯМИ**
Деев Р.В., Плакса И.Л., Бозо И.Я., Ливанова А.А., Исаев А.А.
- 57** **НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОХРАНЕНИЯ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПРИ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЯИЧНИКОВ**
Денисенко М.В.^{1,2}, Абакушина Е.В.², Румянцев С.А.², Савельева Г.М.¹, Курцер М.А.¹, Азиев О.А.¹, Андреев А.И.¹, Костюк Э.В.¹



- 58** **СОЗДАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СИНДРОМА УДЛИНЕННОГО ИНТЕРВАЛА QT**
ДЕМЕНТЬЕВА Е.В.^{1,2,3}, ВЯЛКОВА А.В.^{1,2,3}, ГРИГОРЬЕВА Е.В.^{1,2,3}, МЕДВЕДЕВ С.П.^{1,2,3,4}, ШЕВЧЕНКО А.И.^{1,2,3}, ЕЛИСАФЕНКО Е.А.^{1,2,3}, БАЙРАМОВА С.А.², ПОКУШАЛОВ Е.А.², КАРАСЬКОВ А.М.², ЗАКИЯН С.М.^{1,2,3,4}
- 59** **АНАЛИЗ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭФФЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРОЙ РЕАКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА**
ДРИЗЕ Н.И., ШИПУНОВА И.Н., ПЕТИНАТИ Н.А., БИГИЛЬДЕЕВ А.Е., ЗЕЗИНА Е.А., КУЗЬМИНА Л.А., ПАРОВИЧНИКОВА Е.Н., САВЧЕНКО В.Г.
- 60** **РЕАКЦИЯ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ НА ИМПЛАНТАЦИЮ МОДИФИЦИРОВАННОГО ФТОРОПЛАСТА В ЭКСПЕРИМЕНТ**
ДУДИНСКАЯ А.В. ЮНАШ С.С.
- 61** **РЕАКЦИЯ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ НА ИМПЛАНТАЦИЮ МОДИФИЦИРОВАННОГО ФТОРОПЛАСТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**
ДУДИНСКАЯ А.В., ЮНАШ С.С.
- 62** **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК АУТОГЕННОГО КОСТНОГО МОЗГА ПРИ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТИ**
ДОСОВА А.К., АСКАРОВ М.Б.
- 63** **ПРИМЕНЕНИЕ ФЕТАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТАХ БАРАБАННОЙ ПЕРЕПОНКИ**
ДОСОВА А.К.
- 63** **УЧАСТИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ**
ДОМАРАЦКАЯ Е.И., ШЕВЕЛЕВА О.Н., РАМАЗАНОВА С.Г.
- 64** **КАЧЕСТВЕННАЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕССА ПРИ УДЛИНЕНИИ КОСТИ**
ДЬЯЧКОВА Г.В., ДЬЯЧКОВ К.А.



- 65** **ПЕРСНИФИЦИРОВАННЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ НА
ОСНОВЕ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ
ТКАНИ.**
Еремин И.И.¹, Пулин А.А.¹, Зорин В.Л.^{2,3}, Лазарева Н.Л.¹, Гильмутдинова И.Р.¹,
Гомзяков А.Е.¹, Самчук Д.П.¹, Петрикина А.П.¹, Гринаковская О.С.¹, Еремин П.С.¹,
Чаузова Т.С.³, Мурзабеков М.Б.³, Зорина А.И.²,
Иванников С.В.⁴, Винаров А.^{3,4}, Бутнару Д.В.⁴,
Тимашков Д.А.¹, Витько Н.К.¹, Котенко К.В.⁵
- 66** **ПОИСКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ
ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОСТНЫХ ГРАФТОВ ИЗ ММСК
И СВФ-ЖТ: ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К КЛИНИКЕ**
Еремин И.И.¹, Бозо И.Я.^{2,3,4}, Воложин Г.А.³, Зорин В.Л.², Деев Р.В.^{2,5}, Рожков С.И.³,
Еремин П.С.⁴, Торопов Е.Н.⁴, Сидлецкий В.Я.⁴, Пулин А.А.¹, Дробышев А.Ю.³,
Комлев В.С.⁶
- 67** **РОЛЬ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ
ПОСЛЕ СУБТОТАЛЬНОЙ РЕЗЕКЦИИ**
Ельчанинов А.В.¹, Фатхудинов Т.Х.¹, Кананыхина Е.Ю.^{1,2}, Усман Н.Ю.¹, Арутюнян И.В.
¹, Макаров А.В.¹, Глинкина В.В.³, Большакова Г.Б.², Сухих Г.Т.¹
- 68** **АНГИОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ МСК ПРИ ТКАНЕВЫХ ЗНАЧЕНИЯХ
КИСЛОРОДА**
Ездакова М.И., Жидкова О.В., Ударцева О.О.
- 69** **ВЛИЯНИЕ КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ НА ТЕЧЕНИЕ
ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**
Жгутов Ю.А., Склифас А.Н., Рогов К.А., Темнов А.А.
- 70** **ТКАНЕВЫЙ ХРОМОСОМНЫЙ МОЗАИЦИЗМ У МОНОЗИГОТНОЙ
ТРОЙНИ ПРИ РАННЕЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ**
Зарецкая Н.В., Низяева Н.В., Муравенко О.В., Ступко О.К., Андропова Н.В.,
Ходжаева З.С., Мешалкина И.В., Кан Н.Е., Наговицына М.Н., Щёголев А.И.
- 72** **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ
КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ВОЗРАСТНЫХ
ИЗМЕНЕНИЙ**
Засорин Б.В., Курмангалиев О.М.



- 72** **ПОЛУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ И ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК ИЗ МАТЕРИАЛА КАРДИАЛЬНЫХ ЭКСПЛАНТОВ ЧЕЛОВЕКА**
ЗАХАРОВА И.С.^{1, 2, 3}, ШЕВЧЕНКО А.И.^{1, 2, 3}, ЖИВЕНЬ М.К.^{1, 2, 3}, СААЯ Ш.Б.³, СТРУНОВ А.А.¹,
СМИРНОВА А.М.^{1, 3, 4}, КАРПЕНКО А.А.³, ПОКУШАЛОВ Е.А.³, ИВАНОВА Л.Н.^{1, 4},
ЗАКИЯН С.М.^{1, 2, 3, 4*}
- 73** **ТЕХНОЛОГИИ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ**
ВАСИЛЬЕВ Р.Г.^{1, 2}, ОКСИМЕЦ В.М.², РОДНИЧЕНКО А.Е.^{1, 2},
ЗЛАЦКАЯ А.В.^{1, 2}, ГУБАРЬ О.С.², ОКСИМЕЦ В.В.², ЗУБОВ Д.А.^{1, 2}
- 74** **SPRS-ТЕРАПИЯ: РЕГЕНЕРАЦИЯ КОЖИ И КОРРЕКЦИЯ ЕЁ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ. ИТОГИ ВНЕДРЕНИЯ НА РЫНОК ЭСТЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ**
ЗОРИН В.Л., ЗОРИНА А.И., ИСАЕВ А.А.
- 75** **МОДУЛЯЦИЯ СОСТАВА КОЛЛАГЕНОВЫХ ГЕЛЕЙ ПРИ СОЗДАНИИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ**
ИВАНОВА Е.А., ЮДИНЦЕВА Н.М., СМАГИНА Л.В.,
НАЩЕКИНА Ю.М., ВОРОНКИНА И.В.
- 76** **КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛНОТЫ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ РАНЫ НА СПИНЕ И ЖИВОТЕ КРЫС.**
КАНАНЫХИНА Е.Ю.^{1, 2}, БОЛЬШАКОВА Г.Б.¹
- 77** **БИОТЕХНОЛОГИИ В РЕГЕНЕРАЦИИ РОГОВИЦЫ**
КАВЕЛИНА А.С., ПОПАНДОПУЛО А.Г.
- 78** **СВС МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ СПЛАВОВ ТИТАНА ДЛЯ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ**
КАМЫНИНА О.К.¹, СЫЧЕВ А.Е.¹, ВАДЧЕНКО С.Г.¹, УМАРОВ Л.М.¹, ПЛАЩИНА И.Г.², ГРИГОРЬЯН А.С.³, СЕЛЕЗНЕВА И.И.⁴
- 79** **РОЛЬ МСК В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИИ ЛАНДУЗИ-ДЕЖЕРИНА**
КИСЕЛЕВА Е.В.¹, ДМИТРИЕВ П.², ХАРЧЕНКО О.А.¹, ВАСИЛЬЕВ А.В.¹, ВАСЕЦКИЙ Е.С.²



- 80** НЕИНВАЗИВНЫЙ КОНТРОЛЬ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ
С ПОМОЩЬЮ ЛАЗЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ОЦЕНКИ МИКРОЦИР-
КУЛЯТОРНО-ТКАНЕВЫХ СИСТЕМ
Крупаткин А.И.¹, Сидоров В.В.²
- 81** СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТЕОГЕННОГО ПОТЕН-
ЦИАЛА МСК ЖТ И ТП
Квачева З.Б., Василевич И.Б., Полешко А.Г.,
Волотовский И.Д.
- 82** ЛЕЧЕБНЫЙ ЭФФЕКТ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ
КЛЕТОК И КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ КОНДИЦИОННОЙ СРЕДЫ
И ДЕТОНАЦИОННЫХ НАНОАЛМАЗОВ ПРИ КАРДИОМИОДИ-
СТРОФИИ У КРЫС
Коноплянников А.Г.¹, Филимонова М.В.¹, Коноплянников М.А.², Чеснакова Е.А.¹,
Корнеева Т.С.¹, Самсонова А.С.¹, Кальсина С.Ш.¹, Лепехина Л.А.¹, Попучиев В.В.¹
- 83** КОМПЛЕКСНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
И КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ КАК ОСНОВА РЕГЕНЕРАТИВНОЙ
ФИЗИОТЕРАПИИ
Кончугова Т.В., Ильинская Г.В., Пузырева Г.А., Володина Ю.Л., Королев Ю.Н.,
Кульчицкая Д.Б.
- 83** ЗАДАЧИ ИК-ВИЗУАЛИЗАЦИИ СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ
В РУБЦОВЫХ ТКАНЯХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЛИПОФИЛИНГА
И КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ
Короткова Н.Л., Воловик М.Г.
- 84** РЕГЕНЕРАЦИЯ МИКРООКРУЖЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА
ПРИМЕРЕ СПЕРМАТОГЕННОЙ СИСТЕМЫ
Кулибин А.Ю., Малолина Е.А., Озернюк Н.Д.
- 85** ВОЗМОЖНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ВОССТАНОВ-
ЛЕНИИ ЦЕЛОСТНОСТИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ СФИНКТЕРНОГО
АППАРАТА ПРЯМОЙ КИШКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
Кулинич С.С., Зафранская М.М., Шахрай С.В., Гаин М.Ю., Руденкова Т.В.,
Рябцева С.Н., Гаин Ю.М.



- 86** **ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ТЕСКАЛЦИНА НА АДИПОГЕННУЮ И ХОНДРОГЕННУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА**
Колобынина К.Г.¹, Соловьева В.В.¹, Гомзикова М.О.¹, Журавлева М.Н.¹, Тазетдинова Л.Г.¹, Слепак В.З.², Ризванов А.А.¹
- 87** **НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ОСЛОЖНЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**
Комок В.В., Немков, А.С., Белый С.А.
- 89** **ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИД-ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНЫХ ТКАНЕЙ**
Комлев В.С.¹, Сергеева Н.С.², Федотов А.Ю.¹, Тетерина А.Ю.¹, Егоров А.А.¹, Зобков Ю.В.¹, Свиридова И.К.², Кирсанова В.А.², Ахмедова С.А.², Шанский Я.Д.², Кувшинова Е.А.², Баринев С.М.¹
- 90** **ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 И ПАРАКРИННЫХ ФАКТОРОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ**
Кочкина А.В., Темнов А.А., Новоселов В.И.
- 91** **СОХРАНЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО И РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ОБНОВЛЯЮЩИХСЯ ТКАНЕЙ ПРИ МУТАГЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**
Кузин С.М.¹, Стукалов С.В.²
- 92** **IN VIVO ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ АЛЛОГЕННЫХ ММСК В РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИМИДЖИНГА**
Кузнецова Д.С.^{1,2}, Тимашев П.С.³, Родимова С.А.², Баграташвили В.Н.³, Загайнова Е.В.¹
- 93** **КЛЕТОЧНЫЙ БИОЧИП И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ГЕМОБЛАСТОЗОВ**
Кузнецова С.А., Хвастунова А.Н., Федянина О.С., Закирова А.О., Капранов Н.М., Атауллаханов Ф.И.



93 **ТЕЧЕНИЕ ОЖОГОВОГО ПРОЦЕССА ПОД ВЛИЯНИЕМ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕВОТИРОКСИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Козырко Е.В.¹, Глушаков Р.И.², Прошин С.Н.³,
Тапильская Н.И.³

95 **ВЫБОР МАТЕРИАЛОВ КОНСТРУКЦИЙ ИЗ БИОСОВМЕ-
СТИМЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ТКАНЕВОЙ
ИНЖЕНЕРИИ ЖЕЛЧНЫХ ПРОТОКОВ**

Клабуков И.Д., Люндуп А.В., Дюжева Т.Г., Чвалун С.Н., Григорьев Т.Е., Шепелев А.Д.,
Тенчурин Т.Х.

96 **ТРЕХМЕРНЫЕ 3D ТКАНЕВЫЕ ЭКСПЛАНТЫ СПИНАЛЬНЫХ
ГАНГЛИЙ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ
НЕРВНОЙ ТКАНИ**

Климович П.С., Семина Е.В., Сысоева В.Ю., Рубина К.А., Ткачук В.А.

97 **РЕГЕНЕРАЦИЯ СКЕЛЕТНОЙ И ГЛАДКОЙ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ,
ИНДУЦИРОВАННЫХ АЛЛОГЕННЫМ БИОМАТЕРИАЛОМ**

Лебедева А.И.

97 **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОДИОКСИДА ЦЕРИЯ НА РАНЕВУЮ
РЕПАРАЦИЮ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Легонькова О.А.¹, Ушакова Т.А.¹, Савченкова И.П.²,
Белова М.С.¹

98 **ИНДУЦИРОВАННАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ДЕНДРИТНЫХ
КЛЕТОК И ВЛИЯНИЕ НА ЭТОТ ПРОЦЕСС КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

Лупатов А.Ю*, Сарыглар Р.Ю., Каралкин П.А*,
Полтавцева Р.А**, Быстрых О.А**, Ярыгин К.Н*,
Сухих Г.Т.**

99 **КАТИОННЫЕ ПЕПТИДЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АГЕНТЫ ДЛЯ
МОЛЕКУЛЯРНО-НАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ ДИССЕМИНИРО-
ВАННЫХ ОПУХОЛЕЙ**

Лушникова А.А., Андреев С.М., Пургина Д.Д.,
Морозова Л.Ф., Понкратова Д.А., Абрамов И.С.,
Цыганова И.В., Балбуцкий А.В., Хаитов М.Р.



100

**ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИМЕДИЦИНСКОГО
КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА ДЛЯ ТЕРАПИИ КОЖНЫХ ДЕФЕКТОВ
ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ**

Лыков А.П.^{1,2}, Бондаренко Н.А.^{1,2}, Суровцева М.А.^{1,2}, Повещенко О.В.^{1,2}, Ким И.И.^{1,2},
Повещенко А.Ф.^{1,2}, Покушалов Е.А.², Коненков В.И.¹

101

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ САНОГЕНЕТИ-
ЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА ПРИ ТЕРМИ-
ЧЕСКОЙ ТРАВМЕ**

МАРТУСЕВИЧ А.А., МАРТУСЕВИЧ А.К., ПЕРЕТЯГИН С.П.

102

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ БИОРА-
ДИКАЛОВ КАК СРЕДСТВА РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ**

МАРТУСЕВИЧ А.К., ПЕРЕТЯГИН С.П., СОЛОВЬЕВА А.Г.,
МАРТУСЕВИЧ А.А., ПЕРЕТЯГИН П.В.

103

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НОВЫХ ГЕЛЕВЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА
СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ОЖОГОВОЙ РАНЕ**

МАРТУСЕВИЧ А.К., ПЕРЕТЯГИН П.В., СИДОРОВА М.В.,
ПЕРЕТЯГИН С.П.

104

**БИОРАДИКАЛЬНЫЙ СТРЕСС: СУЩНОСТЬ, ПРИНЦИПЫ ДИАГНО-
СТИКИ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ**

МАРТУСЕВИЧ А.К.¹, КАРИМОВА Р.Г.²

105

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ
ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО
НЕРВА**

МАСГУТОВ Р.Ф.^{1,2}, МАСГУТОВА Г.А.¹, САЛАФУТДИНОВ И.И.¹, РОГОЖИН А.А.¹, ГАЛЛЯМОВ А.Р.^{1,2},
ЖУРАВЛЕВА М.Н.¹,
РИЗВАНОВ А.А.¹

106

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПТИМИЗАЦИИ
КАЧЕСТВА ИМПЛАНТАТОВ ДЛЯ КОСТНОЙ ПЛАСТИКИ**

МАТВЕЙЧУК И.В., РОЗАНОВ В.В., ЛИТВИНОВ Ю.Ю., АНДРЕЕВА Т.М., ШУТЕЕВ С.А.



- 107** СОЗДАНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ НА ОСНОВЕ СИСТЕМЫ CRISPR/CAS9 ДЛЯ КОРРЕКЦИИ МУТАЦИИ DI В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ КРЫС ЛИНИИ BRATTLEBORO
МАЛАНХАНОВА Т.Б., ЗАКИЯН С.М.
- 108** ПЕРСПЕКТИВЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК В ВИДЕ КОНСТРУКЦИЙ ИЗ КЛЕТОЧНЫХ ПЛАСТОВ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ
МАКАРЕВИЧ П.И., ДЕРГИЛЕВ К.В., ЦОКОЛАЕВА З.И., БОЛДЫРЕВА М.А., ПАРФЁНОВА Е.В.
- 109** ОПЫТ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ
МАКАРОВ С.В., РОССИЕВ В.А.
- 109** ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТРЕССОВОГО НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ
МАКАРОВ А.В.^{1,2,3}, АРУТЮНЯН И.В.¹, АПОЛИХИНА И.А.¹, ТЕТЕРИНА Т.А.¹, САИДОВА А.С.¹, АДАМЯН Л.В.¹
- 111** ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ММСК И ГСК ДЛЯ АКТИВАЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭПИТЕЛИЯ КИШЕЧНИКА
МАКЛАКОВА И.Ю., ГРЕБНЕВ Д.Ю., ЯСТРЕБОВ А.П.
- 112** СИСТЕМА CRISPR/CAS9 – РЕВОЛЮЦИОННЫЙ ИНСТРУМЕНТ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГЕНОМИКИ, КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ
МЕДВЕДЕВ С.П.^{1,2,3,4}, ЗАКИЯН С.М.^{1,2,3,4}
- 112** ВЛИЯНИЕ НА КЛОНОГЕННУЮ И ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ РАБДОМИОСАРКОМЫ СВЕРХ-ЭКСПРЕССИИ ГЕНА KLOTNO
МЕЛЕХИН В.В., КОРОТКОВ А.В., МАКЕЕВ О.Г.



- 113** ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ МЕТОДОМ ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ
МЕЛЕШИНА А.В.^{1,2}, ДУДЕНКОВА В.В.^{1,2}, ШИРМАНОВА М.В.^{1,2}, БЫСТРОВА А.С.^{1,2}, ЗАГАЙНОВА Е.В.^{1,2}
- 114** ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ В МИРЕ (ОБЗОР)
МЕЛЬНИКОВА Е.В., МЕРКУЛОВ В.А.
- 115** ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ДОЗ МСК КОСТНОГО МОЗГА НА ПРИЗНАКИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)
МЕЩЕРИН С.С., ОНИЩЕНКО Н.А., ИЛЬИНСКИЙ И.М., АВРАМОВ П.В., СЕВАСТЬЯНОВ В.И.
- 116** КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ВРОЖДЕННЫХ ЛОЖНЫХ СУСТАВОВ БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ У ДЕТЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ.
МИРОНОВ С.П., ОМЕЛЬЯНЕНКО Н.П., КОЖЕВНИКОВ О.В., ИЛЬИНА В.К., ИВАНОВ А.В.
- 117** IN VIVO ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ГАЗООБМЕНА (HEMOLUNG) В ПЕДИАТРИИ
МУСИН Е.А.¹, JEFFRIES R.G.², ОЛЖАЕВ Ф.С.¹, ИСАЕВА Р.Б.¹, ЖУМАДИЛОВ Ж.Ш.¹, САЛИЕВ Т.М., FEDERSPIEL W.J.²
- 117** ВОССТАНОВЛЕНИЕ БАЛАНСА В СИСТЕМЕ «КЛЕТКИ-СТРОМА» — КЛЮЧЕВОЙ ФАКТОР В РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ
МУСЛИМОВ С.А., ЛЕБЕДЕВА А.И., МУСИНА Л.А., СОЛОВЬЕВА Е.П.
- 118** ИЗУЧЕНИЕ ТУМОРОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ В КОНТРОЛЕ И ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ Г-ИЗЛУЧЕНИЯ
МОСКАЛЕВА Е.Ю., СЕМОЧКИНА Ю.П., РОДИНА А.В., ЧУКАЛОВА А.А., ПОСЫПАНОВА Г.А.



- 119** **ПРИЖИЗНЕННАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ**
Наместникова Д.Д.¹, Губский И.Л.¹, Холоденко И.В.², Куташева А.А.¹, Сухинич К.К.^{2,3}, Мельников П.А.², Витушев Е.Я.², Ярыгин К.Н.², Губский Л.В.¹
- 120** **ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДНЫХ СКАФФОЛДОВ И КЛЕТОК ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ХИРУРГИИ КОСТНОЙ ТКАНИ**
Нащекина Ю.А., Юдинцева Н.М., Никонов П.О., Каширова А.О., Иванова Е.А., Смагина Л.В., Шевцов М.А., Александрова С.А., Воронкина И.В., Блинова М.И.
- 121** **УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АНГИОГЕНЕЗА И КЛЕТОК СТРОМЫ ВОРСИН ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ВНУТРИУТРОБНОЙ ЗАДЕРЖКЕ РАЗВИТИЯ ПЛОДА**
Низяева Н.В.¹, Сухачева Т.В.², Серов Р.А.², Куликова Г.В.¹, Наговицына М.Н.¹, Кан Н.Е.¹, Тютюнник В.Л.¹, Щёголев А.И.¹
- 122** **УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВАСКУЛЯРИЗАЦИИ ВОРСИН ПЛАЦЕНТЫ ПРИ РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ**
Низяева Н.В.¹, Сухачева Т.В.², Серов Р.А.², Куликова Г.В.¹, Наговицына М.Н.¹, Кан Н.Е.¹, Тютюнник В.Л.¹, Щёголев А.И.¹
- 123** **ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ НСЛ-ИНДУЦИРОВАННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ТРАХЕИ У КРЫС**
Новоселов В.И., Волкова А.Г., Мубаракшина Э.К., Карадулева Е.В., Гордеева А.Е., Шарапов М.Г., Черноголов А.В., Темнов А.А.,
- 124** **ЛЕЧЕНИЕ КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**
Орехов П.Ю., Чупин А.В., Коноплянников М.А., Баклаушев В.П., Кальсин В.А., Аверьянов А.В.



125 **НОВЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ОБЛАДАЮЩИХ БОЛЬШЕЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ В КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ИХ КРИОКОНСЕРВАЦИИ И ХРАНЕНИЯ**

Орлова Е.В., Маевский Е. И.

126 **РАЗРАБОТКА КОЛЛАГЕНОВОГО ИМПЛАНТА ДЛЯ КЕРАТОПЛАСТИКИ**

Осидак Е.О.¹, Сивогринов Д.Е.¹, Домогатский С.П.^{1,2},
Андреев Ю.В.^{3,4}

127 **МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТЕЛОВЫЕ КЛЕТКИ УСКОРЯЮТ ПРИЖИВЛЕНИЕ АЛЛОГЕННОГО КОЖНОГО ТРАНСПЛАНТАТА**

Оспанова М.Е., Абдрахманова С.А., Буркитбаев Ж.К., Каримов Г.М., Балтабаева Т.С.,
Магзумова Р.З.,
Дашевская Н.В., Аскарлов М.Б.,

128 **СТРУКТУРНАЯ ДИНАМИКА АДГЕЗИВНЫХ КЛЕТОК СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ**

Омельяненко Н.П., Ильина В.К., Ковалев А.В.,
Родионов С.А.

129 **СТРУКТУРНАЯ ДИНАМИКА 3D-АГРЕГАЦИИ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ ХОНДРОЦИТОВ В СФЕРОИДЫ.**

Омельяненко Н.П., Миронов В.А., Кудан Е.А., Князева А.Д., Хесуани Ю.Д., Буланова Е.А., Родионов С. А.

130 **РЕЗИДЕНТНЫЕ СТЕЛОВЫЕ КЛЕТКИ СЕРДЦА: МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ В РЕГЕНЕРАЦИИ МИОКАРДА И ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

Парфенова Е.В., Дергилев К.В.

130 **ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОПРОВОДИТЕЛЬНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ АКТИВИРОВАННЫМИ ЛИМФОЦИТАМИ БОЛЬНОЙ РАКОМ**

Пасова И.А., Маризина Ю.В., Абакушина Е.В.,
Евдокимов Л.В, Агабабян Т.А., Силантьева Н.К., Бердов Б.А.



- 131** РЕГЕНЕРАТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ MGDNF В ПРОЦЕССАХ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕЙРОНОВ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ ИЛИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ИХ ГИБЕЛИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ
ПАВЛОВА Г.В., ТЕСЛЯ П.Н., КУСТ Н.Н., ПАНТЕЛЕЕВ Д.Ю., САВЧЕНКО Е.А., РЕВИЩИН А.В.
- 132** СРАВНЕНИЕ РЕГИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК СЕРДЦА, КОЖИ И КОСТНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА
ПАВЛОВА С.В.^{1,2,3}, СЕРГЕЕВИЧЕВ Д.С.¹, МАЛАХОВА А.А.^{1,2,3}, ЗАХАРОВА И.С.^{1,2,3}, ГРИГОРЬЕВА Е.В.^{1,2,3}, ПОКУШАЛОВ Е.А.¹, ЗАКИЯН С.М.^{1,2,3,4}
- 133** ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНОЙ ОРГАННОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ К ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА
ПАЮШИНА О.В., БЕРЕЗИНА А.А., БУТОРИНА Н.Н., ШЕВЕЛЕВА О.Н., ДОМАРАЦКАЯ Е.И.
- 134** ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ НА СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖОГОВОЙ РАНЕ
ПЕРЕТАГИН С.П., МАРТУСЕВИЧ А.К., КЛЕМЕНОВА И.А., ПЕРЕТАГИН П.В.
- 135** ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПРОГНОЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ АНДРОГЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И МУЖСКОГО СЕКРЕТОРНОГО БЕСПЛОДИЯ СПОСОБАМИ КЛЕТОЧНОЙ, ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ
ПЕТРОВА Е.С., ЮТКИНА В.О., СВЕТЛИЧНАЯ С.В., ТЯМБИНА А.С., ЛУБЯКО А.А.
- 135** НАРУШЕНИЕ РЕГЕНЕРАЦИИ И РАЗВИТИЕ КАНЦЕРОГЕНЕЗА
ПЕЧЕРСКИЙ А.В.¹, ПЕЧЕРСКИЙ В.И., СМОЛЯНИНОВ А.Б.², ВИЛЬЯНИНОВ В.Н.³, АДЫЛОВ Ш.Ф.², ШМЕЛЁВ А.Ю.¹, ПЕЧЕРСКАЯ О.В.¹, СЕМИГЛАЗОВ В.Ф.⁴
- 137** ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПРОДУКЦИИ ТЕСТОСТЕРОНА У МУЖЧИН СТАРШЕ 40 ЛЕТ
ПЕЧЕРСКИЙ А.В.¹, ПЕЧЕРСКИЙ В.И., СМОЛЯНИНОВ А.Б.², ВИЛЬЯНИНОВ В.Н.³, АДЫЛОВ Ш.Ф.², СЕМИГЛАЗОВ В.Ф.⁴



138 **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ДЛЯ ПРЕДУ-
ПРЕЖДЕНИЯ РУБЦЕВАНИЯ ПОВРЕЖДЁННЫХ ТКАНЕЙ**

ПЕЧЕРСКИЙ А.В. ¹, ПЕЧЕРСКИЙ В.И., ШПИЛЕНЯ Е.С. ¹, ГАЗИЕВ А.Х. ¹, СЕМИГЛАЗОВ В.Ф. ²

139 **ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ
В КОРРЕКЦИИ РУБЦА МИОМЕТРИЯ**

ОНОПРИЕНКО Н.В., ПЕКАРЕВ О.Г., ПЕКАРЕВА Е.О.,
МАЙБОРОДИН И.В.

140 **МОДУЛЯЦИЯ КВЕРЦЕТИНОМ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МСК
ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ГЕПАТОЦИТАРНОМ НАПРАВЛЕНИИ**

ПИНЧУК С.В., ВАСИЛЕВИЧ И.Б., КВАЧЕВА З.Б.,
ВОЛОТОВСКИЙ И.Д.

141 **ВОЗМОЖНО ЛИ ВОССТАНОВЛЕНИЕ СУСТАВНОГО ХРЯЩА? 20
ЛЕТ ДИСКУССИЙ И ОПЫТА**

ПОНОМАРЁВ И.В.

142 **МУТАЦИИ ГЕНОВ BRAF, NRAS, KIT В МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ
МЕЛАНОМЕ ГЕНИТАЛИЙ И ВОЗМОЖНОСТЬ ТАРГЕТНОЙ
ТЕРАПИИ**

ПОНКРАТОВА Д.А., ЛУШНИКОВА А.А., ЦЫГАНОВА И.В., СЕНДЕРОВИЧ А.И., БАЛБУЦКИЙ А.В.,
ВИХРОВА А.С.,
ПЕТЕНКО Н.Н., ЧЕРЕМУШКИН Е.А., КОРЖЕВСКАЯ Е.В., МИХАЙЛОВА И.Н.

143 **ВОСТРЕБОВАННОСТЬ ОБРАЗЦОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ
В БАНКАХ ПЕРСОНАЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ**

ПОТАПОВ И.В., ПРИХОДЬКО А.В., ИСАЕВ А.А.

144 **КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
АУТОЛОГИЧНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ
С НАРУШЕНИЕМ ОСТЕОРЕПРАЦИИ**

ПОПАНДОПУЛО А.Г., БУШЕ В.В.

144 **РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ НА ЖИВОТНЫХ ДЕЦЕЛЛЮЛИРО-
ВАННЫХ СОСУДИСТЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ**

ПОПАНДОПУЛО А.Г., САВЧУК М.В.



- 145** **ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ МИОКАРДА У ЛИКВИДАТОРОВ
АВАРИИ НА ЧАЭС, СТРАДАЮЩИХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ
НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛО-
ГИЧНЫХ КАРДИОМИОБЛАСТОВ И ПРОВЕДЕНИИ НИЗКОИНТЕН-
СИВНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ**
Поповкина О.Е., Каплан М.А., Конопляников А.Г.
- 146** **О РОЛИ БЕЛКА ABCG2 В ПОДДЕРЖАНИИ ЖИЗНЕСПОСОБ-
НОСТИ И РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МСК
В КУЛЬТУРЕ ПРИ ГИПОКСИИ**
Полешко А.Г., Волотовский И.Д.
- 147** **НАЗВАНИЕ ТЕЗИСОВСЛИЗИСТАЯ ОБОЛОЧКА ДЕСНЫ – НОВЫЙ
ИСТОЧНИК МИОБЛАСТОВ**
Пулин А.А.¹, Еремин И.И.¹, Зорин В.Л.^{2,3}, Корсаков И.Н.¹, Гринаковская О.С.¹, Чаузова
Т.С.³, ЛАЗАРЕВА Н.Л.¹,
Еремин П.С.¹, Гомзяков А.Е.¹, Самчук Д.П.¹,
Гильмутдинова И.Р.¹, Петрикина А.П.¹, Деев Р.В.^{2,3},
Бозо И.Я.^{2,3}, Витько Н.К.¹, Тимашков Д.А.¹, Копнин П.Б.⁴, Котенко К.В.⁵
- 148** **ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИ-
МАЛЬНЫХ И НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА
НА ПАМЯТЬ МЫШЕЙ С НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЕЙ АЛЬЦГЕЙМЕ-
РОВСКОГО ТИПА**
Полтавцева Р.А.¹, Бобкова Н.В.², Самохин А.Н.², Сухих Г.Т.¹
- 149** **ТРАНСПОРТ МИТОХОНДРИЙ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ МУЛЬТИ-
ПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ОБЕСПЕЧИВАЕТ ИХ
НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРИ ИНСУЛЬТЕ**
Плотников Е.Ю.^{1,4}, БАБЕНКО В.А.^{2,4}, СИЛАЧЕВ Д.Н.^{1,4},
Зорова Л.Д.^{3,4}, ПЕВЗНЕР И.Б.^{1,4}, ХУТОРНЕНКО А.А.², Сухих Г.Т.⁴, Зоров Д.Б.^{1,4}
- 150** **ИМПЛАНТАТЫ С АНТИБИОТИКАМИ В ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНОЙ
КОСТНОЙ РАНЫ**
Рагинов И.С.¹, Егоров В.И.¹, Валиуллин Л.Р.¹, Акатов В.С.², Очкуренко А.А.³, Рябов
А.Ю.⁴, Лекишвили М.В.³



- 151** **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ АМОРФНОГО НАНОДИСПЕРСНОГО ГИДРОКСИАПАТИТА КАЛЬЦИЯ В ЛЕЧЕНИИ ПАРОДОНТИТА**
Ралович И.С., Модина Т.Н., Круглова И.С.
- 152** **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОДИСПЕРСНОГО БИОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА**
Рахматуллин Р.Р.¹, Шевлюк Н.Н.², Мокрицкий И.Л.¹,
Бурцева Т.И.¹
- 153** **АУТОТРАНСПЛАНТАЦИЯ МИКРОГРАФТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ В ПРЕФАБРИКАЦИИ СЛИЗИСТО-МЫШЕЧНЫХ АУТОТРАНСПЛАНТАТОВ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТКАНЕЙ ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ**
Решетов И.В., Ребрикова И.В., Поляков А.П.,
Ратушный М.В., Маторин О.В., Филюшин М.М.
- 154** **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИНАМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ЗАСЕЛЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК В ТРЕХМЕРНЫЕ МАТРИКСЫ ИЗ ПОЛИЛАКТИДА, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КОЛЛАГЕНОМ**
Родина А.В., Тенчуринов Т.Х., Москалева Е.Ю., Чвалун С.Н., Северин С.Е..
- 155** **ФУЛЛЕРЕНА C85N10H60CL6, C60P5015H6K5, C105O10K5CLH40 И МУЖСКОЕ ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА**
Руднева С.А.¹, Ермолаева С.А.¹, Трошин П.А.², Костюк С.В.¹, Курило Л.Ф.¹
- 156** **БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ МЕТОДОВ КЛЕТОЧНОЙ, ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ**
Агрба В.З.², Аравиашивили Д.Э.², Буданов Р.В.¹,
Гварамия И.А.², Игнатова И.Е.², Карал-оглы Д.Д.², ЛубякоА.А.¹, Петрова Е.С.¹,
Петрушевская В.В.¹, Русия А.Г.¹, Сергеева Н.В.²
- 157** **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУНОСУПРЕССОРНОЙ ПРОГРАММЫ MCK IN VITRO**
Романов А.Ю., Горюнов К.В., Суздальцева Ю.Г., Рубцов Ю.П., Ткачук В.А.



- 158** **ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ ТРАВМИРОВАННОГО СПИННОГО МОЗГА КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ**
РОМАНОВА Ю.Р., ЛАЙКОВ А.В., САНАТОВА Э.Р., ГАЛИЕВА Л.Р., САЛАФУТДИНОВ И.И., МУХАМЕДШИНА Я.О.
- 159** **ВЛИЯНИЕ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА ПРОЦЕСС РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА**
РОЗАНОВ В.В., МАТВЕЙЧУК И.В., ЛИТВИНОВ Ю.Ю., НИКОЛАЕВА А.А.
- 160** **ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИИ ПЛАЦЕНТАРНО/ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ТЯЖЕЛОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС**
РЯБОВ С.И., ЗВЯГИНЦЕВА М.А., СМИРНОВ В.А., ГРИНЬ А.А., КРЫЛОВ В.В.
- 161** **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ ОСТРОВКОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА**
САПАРБАЕВ С.С., ТАУБАЛДИЕВА Ж.С., ОСПАНОВА А.З., КАСЫМОВА Ж.А., КАРТАБАЕВА Г.О.
- 162** **КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ, ХРЯЩЕВОЙ И СУХОЖИЛЬНОЙ ТКАНЕЙ В ОРТОПЕДО-ТРАВМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**
САВИНЦЕВ А.М.^{1,3}, МАЛЬКО А.В.¹, СУПРУН К.С.¹, АДЫЛОВ Ш.Ф.², БАГАЕВА В.В.², АЙЗЕНШТАДТ А.А.³
- 163** **НОВЫЙ СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В ЗОНЕ ПЕРЕЛОМА КОСТЕЙ ПРИ ОСТЕОПОРОЗЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ СИНТЕТИЧЕСКИМ БИСФОСФОНАТНЫМ ОСТЕОТРОПНЫМ ПОЛИМЕРОМ**
САФАРОВА Ю.И.¹, ОЛЖАЕВ Ф.С.¹, ИДРИСОВА Д.Ш.¹, УМБАЕВ Б.А.¹, МУРАТА Х.², РАССЕЛ А.², АСКАРОВА Ш.Н.¹



- 164** ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ВУЛЬВЫ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ «ALLOPLANTR СТИМУЛЯТОР РЕГЕНЕРАЦИИ»
Сахавудинова И.В., Муслимова С.Ю., Симакова Е.Л.
- 165** ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК В РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ
Сазонов С.В., Коротких А.Г.
- 166** ИДЕНТИФИКАЦИЯ СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОДТИПАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Леонтьев С.Л.
- 167** ПЕРВЫЙ ОПЫТ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ КОМПОЗИЦИОННЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИД-ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ, ПОЛУЧЕННЫХ ПУТЕМ 3D-ПРИНТИНГА И ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНО-ХРЯЩЕВЫХ ДЕФЕКТОВ
Сергеева Н.С.¹, Свиридова И.К.¹, Кирсанова В.А.¹, Ахмедова С.А.¹, Кувшинова Е.А.¹, Шанский Я.Д.¹, Комлев В.С.², Баринов С.М.², Федотов А.Ю.², Тетерина А.Ю.², Зобков Ю.В.², Егоров А.А.²
- 168** ВЛИЯНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА [C60] НА ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА
Сергеева В.А., Каменева Л.В., Ершова Е.С., Вейко Н.Н., Костюк С.В.
- 169** МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРВНОЙ ТКАНИ С УЧАСТИЕМ УРОКИНАЗЫ И УРОКИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА
Семина Е.В., Рысенкова К.Д., Климович П.С., Рубина К.А., Сысоева В.Ю., Ткачук В.А.
- 170** ВЛИЯНИЕ КОЛЛАГЕНОВОГО МАТРИКСА НА МОРФОЛОГИЮ ПЕРВИЧНЫХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ МЫШИ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК РОГОВИЦЫ КРОЛИКА
Сивогризов Д.Е.¹, Осидак Е.О.¹, Домогатский С.П.^{1,2}



171 **НАПРАВЛЕННА РЕГЕНЕРАЦИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ
РТА ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ОПЕРАЦИИ – ПЛАСТИКА
ОРО-АНТРАЛЬНОГО СОУСТЬЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТРОМБОЦИ-
ТАРНОЙ АУТОПЛАЗМЫ (ТАП)**

Сипкин А.М., Никитин А.А., Модина Т.Н., Юдин Д.К.

172 **ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ
МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ
КЛЕТОК В ГОЛОВНОЙ МОЗГ НА ФОНЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ
ТРАВМЫ**

Силачёв Д.Н.^{1,2}, Плотников Е.Ю.^{1,2}, Бабенко В.А.^{1,2}, Данилина Т.И.², Зорова Л.Д.^{1,2},
Певзнер И.Б.^{1,2}, Зоров Д.Б.^{1,2}, Сухих Г.Т.²

173 **ПРОТЕЗЫ СОСУДОВ МАЛОГО ДИАМЕТРА, ИЗГОТОВЛЕННЫЕ
МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОСПИННИНГА: МОДИФИКАЦИЯ ФИЗИКО-
ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИ-
МОСТИ IN VITRO И IN VIVO**

Степанова А.О.^{1,2}, Попова И.В.², Черноусова В.С.^{1,2}, Коробейников М.В.³, Карпенко
А.А.¹, Покушалов Е.А.¹, Власов В.В.², Лактионов П.П.^{1,2}

174 **ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В ОПУХОЛЕВОЙ
ТКАНИ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО РАКА ЯИЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Соболев И.В.¹, Глушаков Р.И.², Прошин С.Н.³, Тапильская Н.И.³

175 **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
С ЛИМФОЦИТАМИ**

Свирщевская Е.В.¹, Романов Ю.А.², Волгина Н.Е.³, Балашова Е.Е.², Полтавцева Р.А.³

176 **РАЗРАБОТКА СПОСОБА ЛЕЧЕНИЯ РУБЦОВЫХ ПОРАЖЕНИЙ
ГОЛОСОВЫХ СКЛАДОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИ-
МАЛЬНЫХ КОСТНОМОЗГОВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

проф. д.м.н. Свистушкин В.М., проф. д.м.н.
Старостина С.В., к.м.н. Люндуп А.В., Дедова М.Г., Будейкина Л.С., Свистушкин М.В.

177 **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ NO-ТЕРАПИЯ ПРИ ОЖОГОВОЙ
БОЛЕЗНИ**

Соловьева А.Г., Беляева К.Л.



- 178** **РОЛЬ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ В ИНДУКЦИИ СИНТЕЗА ИДОВ ММСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ.**
Суздальцева Ю.Г.^{1,2}, Горюнов К.В.², Рубцов Ю.П.², Ткачук В.А.²
- 179** **СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ГЛАДКОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ВНЕДРЕНИЯ В НЕЁ ПОЛИТЕТРАФТОРЭТИЛЕНА**
Созыкин А.А.
- 180** **МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К ЭНДОГЛИНУ ИНГИБИРУЮТ ПРОДУКЦИЮ ЕГО РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ EA.HY926**
Смирнов И.В., Терехина Л.А., Грязева И.В.
- 181** **ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФНО-АЛЬФА НА МОДЕЛИ МЕТАСТАЗИРУЮЩЕГО В КОСТИ ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА L1210/1**
Сысоева* Г.М., Зонов Е.В.** Е.И., Даниленко* Е.Д., Грунева* Л.В., Левагина* Г.М.
- 182** **СОЗДАНИЕ ТКАНЕИНЖИНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ЦЕЛЬЮ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА**
Скалецкий Н.Н., Кирсанова Л.А., Баранова Н.В., Бубенцова Г.Н., Скалецкая Г.Н., Севастьянов В.И.
- 182** **НОВЫЕ ПОДХОДЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭНДОГЕННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ**
Скурихин Е.Г., Першина О.В., Ермакова Н.Н., Крупин В.А., Пахомова А.В., Хмелевская Е.С., Ермолаева Л.А., Пан Э.С., Дыгай А.М.
- 183** **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ ПЛАЦЕНТАРНЫХ МКРНК В ПЛАЗМЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ**
Тимофеева А.В., Гусар В.А., Прозоровская К.Н., Ломова Н.А., Ганичкина М.Б., Ховхаева П.А., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Низяева Н.В., Франкевич В.Е., Бобров М.Ю.



- 184** **ПРИМЕНЕНИЕ РЕПАРАНТА ПРИ ВТОРИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У ШКОЛЬНИКОВ**
ТУРДЫЕВА Ш.Т.
- 185** **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОГО МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА, ПОДВЕРГШИХСЯ КОРОНАРНОЙ АНГИОГРАФИИ СО СТЕНТИРОВАНИЕМ**
ТУЛЯГАНОВА Д.К., ШОДИЕВ Ж.Д., РАДЖАБОВА Д.И., ТОШЕВ Б.Б.
- 186** **МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МСК К НОРАДРЕНАЛИНУ**
ТЮРИН-КУЗЬМИН П.А., ФАДЕЕВА Ю.И., КАЛИНИНА Н.И., СЫСОЕВА В.Ю., КАНАРЕЙКИНА М.А., КОТОВА П.Д., КОЛЕСНИКОВ С.С., ТКАЧУК В.А.
- 187** **ОПЫТ СОЗДАНИЯ И ИСПЫТАНИЯ АНГИОГЕННЫХ, НЕЙТРОТРОФНЫХ И АНТИФИБРОТИЧЕСКИХ ГЕННО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**
ТКАЧУК В.А., ПАРФЁНОВА Е.В.
- 188** **ОСОБЕННОСТИ ОТВЕТА ММСК НА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ**
УДАРЦЕВА¹ О.О., ЖИДКОВА¹ О.В., БУРАВКОВ² С.В.
- 189** **ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ФИБРОБЛАСТОВ ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ**
ФАДЕЕВ Ф.А., ЛУГОВЕЦ Д.В., УЛИТКО М.В., ЛЕОНТЬЕВ С.Л., САЗОНОВ С.В.
- 190** **ПОЛУЧЕНИЕ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РОБОТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ СОМРАСТ SELECT**
ФАДЕЕВ Ф.А., УЛИТКО М.В., ЛУГОВЕЦ Д.В., САЗОНОВ С.В., ЛЕОНТЬЕВ С.Л.
- 191** **ФУНКЦИОНАЛЬНО ОТЛИЧНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ МСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА ЭКСПРЕССИРУЮТ РАЗЛИЧНЫЕ СУБТИПЫ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ**
ФАДЕЕВА Ю.И., ГОРЮНОВ К.В., ДЫЙКАНОВ Д.Т., ШАРОНОВ Г.В., СЫСОЕВА В.Ю., РУБЦОВ Ю.П., ТЮРИН-КУЗЬМИН П.А., КАЛИНИНА Н.И., ТКАЧУК В.А.



192 **ПРИНЦИПЫ РАЗРАБОТКИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ
НА ОСНОВЕ КСЕНОГЕННЫХ МАТРИЦ**

ФАДЕЕВА И.С.^{1,2}, СЕНОТОВ А.С.¹, ФАДЕЕВ Р.С.^{1,2},
КИРСАНОВА П.О.¹, ПРОСВИРИН А.А.³, КУЗЬМИН М.В.^{1,2},
ФЕСЕНКО Н.И.², ЛЕКИШВИЛИ М.В.⁴, АКАТОВ В.С.^{1,2}

193 **НЕ ПОДВЕРЖЕННЫЕ КАЛЬЦИНОЗУ БИОМАТЕРИАЛЫ НА
ОСНОВЕ АЛЛО- И КСЕНОПЕРИКАРДА ДЛЯ РЕКОНСТРУК-
ТИВНОЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ**

ФАДЕЕВА И.С.^{1,2}, САЧКОВ А.С.³, СОРКОМОВ М.Н.³, СЕНОТОВ А.С.¹, ФЕСЕНКО Н.И.², ФАДЕЕВ
Р.С.^{1,2}, БРИТКОВ Д.В.³, МУРАТОВ Р.М.³, АКАТОВ В.С.^{1,2}

194 **МЕХАНИЗМ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИ-
МАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

ФАТХУДИНОВ Т.Х., АРУТЮНЯН И.В., ЕЛЬЧАНИНОВ А.В.

194 **ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ, КАК РЕГУЛЯТОРЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕ-
РАЦИИ СЕМЕННИКОВ**

ХРАМЦОВА Ю.С.

195 **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ
У БОЛЬНЫХ С БАРДЕ-БИДЛЯ СИНДРОМОМ И ВОЗМОЖНОСТИ
ИХ КОРРЕГИРОВАНИЯ**

ХРИСТУ-САВИНА СОФЬЯ ВАЛЕРЬЕВНА

196 **ПОЛУЧЕНИЕ АЛЬБУМИН-ПРОДУЦИРУЮЩИХ ГЕПАТОЦИТ-
ПОДОБНЫХ КЛЕТОК ИЗ ФЕТАЛЬНЫХ И ВЗРОСЛЫХ ФИБРО-
БЛАСТОВ КОЖИ.**

ХОЛОДЕНКО И.В.¹, ЛУПАТОВ А.Ю.¹, ХОЛОДЕНКО Р.В.²,
БУРУНОВА В.В.¹, ЯРЫГИН К.Н.¹

198 **ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ СУХОЖИЛЬНО-
СВЯЗОЧНОГО АППАРАТА С ПОМОЩЬЮ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ
КОНСТРУКЦИЙ С МСК КОСТНОГО МОЗГА**

ЧАЙЛАХЯН Р.К.¹, ИВАННИКОВ С.В.², СУСЛИН Д.С.²,
ТЕЛЬПУХОВ В.И.², ГЕРАСИМОВ Ю.В.¹, ТОНЕНКОВ А.М.²,
ГРОШЕВА А.Г.¹, ВОРОБЬЕВА Н.Н., БАГРАТАШВИЛИ В.Н.³



199 **СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОВЕДЕНИЮ ДОКЛИНИЧЕСКИХ
ИСПЫТАНИЙ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ
(ОБЗОР)**

Чапленко А.А., Меркулова О.В., Олефир Ю.В.

200 **КОМПОЗИТНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОВРЕЖ-
ДЕННЫХ УЧАСТКОВ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА СУСТАВНЫХ
ПОВЕРХНОСТЕЙ**

Черноносова В.С.^{1,2}, Степанова А.О.^{1,2},
Годовикова Т.С.², Науменко О.Б.², Булатов К.А.³,
Патрушев А.Ю.³, Майбородин И.В.³, Шевела А.И.³,
Шевченко А.И.¹, Лактионов П.П.^{1,2}

201 **ПОЛУЧЕНИЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МАТРИКСА ПЕЧЕНИ
ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

Шагидулин М.Ю.^{1,2}, Онищенко Н.А.¹, Крашенинников М.Е.², Немец Е.А.¹, Григорьев
А.М.¹, Бабий Е.В.¹,
Ильинский И.М.^{1,2}, Можейко Н.П.¹, Боброва М.М.³,
Сафонова Л.А.³, Аврамов П.В.¹, Севастьянов В.И.¹,
Готье С.В.^{1,2}

202 **ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТЕРОНА
КЛЕТКАМИ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА В РАННЕМ ПРЕНАТАЛЬНОМ
ОРГАНОГЕНЕЗЕ И ПОСТНАТАЛЬНОМ РЕГЕНЕРАТОРНОМ
ГИСТОГЕНЕЗЕ**

Шаповалова Е.Ю., Бойко Т.А., Барановский Ю.Г.,
Ильченко Ф.Н.

202 **ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА
ВОССТАНОВЛЕНИЕ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ПОВРЕЖ-
ДЕНИЯ**

Шевелева О.Н., Рамазанова С.Г.

203 **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ И ТУЧНЫХ
КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ НА ФОНЕ КОЛЕБАНИЙ ЭНДОГЕННЫХ
БИОГЕННЫХ АМИНОВ**

Шорников А.И.



- 204** **ГЕННО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ КОРОНАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ.**
Шуман Е.А., Макеев О.Г., Коротков А.В.
- 205** **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**
Юдинцева Н.М., Нащекина Ю.А., Блинова М.И., Орлова Н.В., Виноградова Т.И., Муравьев А.Н.
- 206** **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**
Юдинцева Н.М., Нащекина Ю.А., Блинова М.И., Орлова Н.В., Виноградова Т.И., Муравьев А.Н.
- 207** **МЕСТНАЯ ТКАНЕВАЯ РЕАКЦИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВОЙ РАНЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**
Юнаш С.С., Дудинская А.В.
- 208** **ИММУННАЯ СИСТЕМА И РЕГУЛЯЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ**
Юшков Б.Г., Черешнев В.А.
- 209** **THE POST-TRAUMATIC SYRINGOMYELIA MANAGEMENT AND FUNCTIONAL IMPROVEMENT OF CHRONIC SPINAL CORD INJURY BY MESENCHYMAL STEM CELLS**
CHAO ZHANG^{1,2}, PAVEL A. MELNIKOV², ANNA N. GABASHVILY², ANNA YU. MOROZOVA³, MAXIM A. AVAKUMOV², VLADIMIR P. BAKLAUSHEV^{2,4} AND VLADIMIR P. CHEKHONIN^{2,3}
- 210** **ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ЦИТОКИНОВ С ТРОПНОСТЬЮ К КОСТНОЙ ТКАНИ**
Лебедев Л.Р., Даниленко Е.Д., Волосникова Е.А., Телегина Ю.В., Зайцев Б.Н.