



III

МЕЖРЕГИОНАЛЬНАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ



2014

Екатеринбург

**КЛЕТОЧНЫЕ
ТЕХНОЛОГИИ —
ПРАКТИЧЕСКОМУ
ЗДРАВООХРАНЕНИЮ**

Министерство здравоохранения Свердловской области



ГБУЗСО «Центр организации
специализированных видов
медицинской помощи
«Институт медицинских
клеточных технологий»



ГБОУ ВПО
«Уральский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Клеточные технологии — практическому здоровоохранению

Материалы III межрегиональной научно-практической конференции,
16 октября 2014 г.

Под общей редакцией проф. С. Л. Леонтьева
Ответственный за выпуск проф. С. В. Сазонов

Екатеринбург, 2014

УДК 575.113.1+577.21:616-092
ББК 52.54

Сборник научных работ. Клеточные технологии — практическому здравоохранению, 2014/ Под общей редакцией проф. Леонтьева С. Л. — ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург: Изд-во Астер. 2014. 102 с.

Collection of scientific papers. Kletonye technology — practical health care, 2014 / Edited by prof. Leontiev SL — GBUZSO Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg: Izd Astaire. 2014. 102 p.

В сборнике представлены работы, отражающие основные направления развития клеточных технологий и научные исследования, проводимые как в Российской Федерации, так и непосредственно в Свердловской области научными сотрудниками ГБУЗСО «Центр организации специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий» и ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. Также в сборнике представлены некоторые научные продукты и достижения института за 2014 г. Издание представляет интерес для широкого круга врачей, научных сотрудников, биологов, аспирантов, студентов медицинских вузов и биологических факультетов.

Рецензенты:

Заслуженный деятель науки РФ, член-корр. РАН,
профессор А. П. Ястребов

Заслуженный деятель науки РФ,
профессор Б. Г. Юшков

© ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, 2014

© ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет, 2014

СОДЕРЖАНИЕ

Вступительное слово Министра здравоохранения Свердловской области Белявского А. Р.	5
ДОКЛАДЫ	
Лебединская Ольга Витальевна Исследование способов получения матрикса трахеи, заселённого мезенхимальными стволовыми клетками, для аллогенной трансплантации	8
Нехаева Татьяна Леонидовна Опыт клинического применения стандартизованных противоопухолевых вакцин на основе аутологичных дендритных клеток	12
Ефименко Анастасия Юрьевна Аутологичная клеточная терапия: влияние факторов риска на стволовые и прогениторные клетки	17
Макеев Олег Германович Аспекты применения аутологичных фибробластов в косметологии с позиции клинической практики	23
Волчков Станислав Евгеньевич Сравнительная оценка мезенхимально-стромальных клеток из различных источников	34
Тюмина Ольга Владимировна, Волчков Станислав Евгеньевич Организация работы банков пушовой крови в России и международное сотрудничество	36
Гребнев Дмитрий Юрьевич Влияние различных доз ГСК при проведении сочетанной трансплантации с ММСК на регенерацию миелоидной ткани после воздействия ионизирующего излучения	38
Волова Лариса Теодоровна Возможности восстановления дефектов суставного гиалинового хряща с позиций клеточно-тканевых технологий	43
НАУЧНЫЕ СТАТЬИ	
Фадеев Ф. А., Савина П. С., Улитко М. В., Сергеев А. Г. Иммуносупрессивные свойства мезенхимальных стромальных клеток. Перспективы терапевтического применения	48
Киселёва Е. П., Гаин Ю. М., Дрожденюк А. П. Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани в составе биотрансплантатов при восстановлении целостности кожных покровов	56
Шаповалова Е. Ю., Бойко Т. А., Барановский Ю. Г., Каракулькина О. А., Барановский А. Г. Оптимизация типа коллагена каркаса в биоинженерных конструкциях для оптимального заживления язв кожи с учетом эмбриогенеза кожи у эмбрионов человека	60
Коротков А. В., Макеев О. Г., Шуман Е. А. Оптимизация протокола индукции плюрипотентных стволовых клеток	65
Пономарев А. И., Макеев О. Г., Зверева А. И., Коротков А. В. Исследование консервирующих свойств клатратов инертного газа ксенона на модели краткосрочного хранения кожных лоскутов	78

но. Спустя 3-е суток после начала эксперимента среднее число клеток в опытной и контрольной группах практически совпадало ($5 \pm 2,5$ и $5,2 \pm 2,5$) и значимо не различалось ($p > 0,87$). На 7-й день различие становилось более заметным ($5,3 \pm 2,2$ и $4,6 \pm 4,7$), но незначимым ($p > 0,35$). А в период 7–14 суток после применения АГБ, наряду с лизисом и резорбцией трансплантата, численность MyoD^+ клеток вступала «в фазу роста» и возрастала в 1,5 раз (до $7,6 \pm 5,3$) ($p < 0,03$), в контрольной группе стремительно падала до $0,6 \pm 0,7$ и в последующем (30–90 суток) не выявлялись вовсе. После применения АГБ в период 30–60 суток число MyoD^+ клеток значимо ($p < 0,0001$) снижалось и выходило на «фазу плато», включая 90 дней ($2,4 \pm 1,6 \div 1,8 \pm 1,0$). Критерий Краскела–Уоллеса подтвердил высокую значимость результатов: $\chi^2 = 26,2$, $p < 0,0002$ и $\chi^2 = 17,9$, $p < 0,0002$ соответственно (рис. 4б).

Выводы

После глубокого повреждения скелетной мышечной ткани в контрольной группе выявляется выраженная экспрессия клетками промотора фиброза — $\text{TGF-}\beta 1^+$ и дефицит MyoD^+ миобластов, что указывает на развитие стремительного коллагеногенеза и снижение скорости миогенеза. Исходом процесса заживления является несостоятельный регенерат.

После применения АГБ продукты его биодegradации стимулируют рост и дифференциацию MyoD^+ клеток на фоне низкой экспрессии $\text{TGF-}\beta 1^+$, что способствует ингибированию фиброза и полноценному миогенезу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Burks T. N., Cohn R. D. Role of TGF- β signaling in inherited and acquired myopathies // Skeletal Muscle.-2011.- P. 1-19.
2. Kanisicak O., Mendez J. J., Yamamoto Sh. et al. Progenitors of skeletal muscle satellite cells express the muscle determination gene MyoD // Developmental Biology.- 2009.- Vol. 332.- P. 131–141.
3. Yoshimura A., Muto G. TGF- β function in immune suppression // Curr Top MicrobiolImmunol.- 2011.- Vol. 350.- P. 127-147.

Бутенко Е. В., Пушкин А. А., Дервянчук Е. Г.

ПОИСК МИКРО-РНК РЕГУЛЯТОРОВ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ ДЛЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ТЕРАПИИ ОНКОЗАБОЛЕВАНИЙ

Научно-исследовательский институт биологии Академии биологии
и биотехнологии ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет»,
Ростов-на-Дону, evbutenko@sfedu.ru

В настоящее время в лечении онкозаболеваний всё большее применение находят терапевтические подходы, основанные на явлении РНК-интерференции. Уникальность данной методики заключается в использовании малых интерфери-

рующих РНК (siRNA) и микро-РНК (microRNA, ми-РНК), которые, в свою очередь, способны осуществлять нокдаун онкогенов, воздействуя на экспрессию целевых мРНК.

В данном контексте проблема выбора ми-РНК ингибиторов онкогенов стоит очень остро. Поэтому разработка биоинформационных подходов к поиску потенциальных кандидатов для клеточной терапии онкозаболеваний является актуальной, поскольку позволит значительно снизить расходы на экспериментальную проверку всего спектра известных ми-РНК регуляторов канцерогенеза.

В связи с этой целью нашего исследования явилась разработка биоинформационного подхода к выбору ми-РНК регуляторов генов-мишеней для клеточных технологий терапии онкозаболеваний на примере меланомы кожи человека.

На первом этапе проводили текстовый поиск по базе данных научной литературы PubMed. Было отобрано 8 работ, в которых был экспериментально изучен полногеномный профиль экспрессии ми-РНК при меланоме по сравнению со здоровыми меланоцитами.

В результате была сформирована сводная таблица данных по изменению экспрессии ми-РНК при меланоме, в которой были учтены совпадения и различия в экспериментальных данных разных авторов.

На втором этапе проводили поиск ми-РНК потенциальных кассетных регуляторов активности генов, ассоциированных с развитием меланомы по базе данных miTarBase путем автоматического сбора данных при помощи скрипта. Поиск проводили по 160 генам человека, экспрессия которых изменялась при меланоме по данным литературы.

В результате выявлены 5 ми-РНК, регулирующих 10 и более генов, ассоциированных с развитием меланомы (hsa-miR-335-5p, hsa-miR-26b-5p, hsa-miR-34a-5p, hsa-miR-124-3p, hsa-miR-193b-3p), 11 ми-РНК, регулирующих экспрессию пяти и более генов (hsa-let-7b-5p, hsa-miR-16-5p, hsa-miR-155-5p, hsa-miR-215-5p, hsa-miR-615-3p, hsa-miR-21-5p, hsa-let-7a-5p, hsa-miR-192-5p, hsa-miR-1, hsa-miR-186-5p, hsa-miR-125b-5p), 13 ми-РНК, регулирующих экспрессию четырех генов. Для 160 генов, ассоциированных с развитием меланомы, всего обнаружено 158 ми-РНК, участвующих в их регуляции.

После сравнения данных по изменению экспрессии ми-РНК при меланоме, полученных экспериментально, с выявленными в ходе биоинформационного поиска ми-РНК кассетных регуляторов активности генов, нами было отобрано 3 ми-РНК (miR-192, miR-26b, и let-7b), ассоциированных с процессом меланомогенеза по данным профилей экспрессии, и при этом регулирующих более 5 генов по данным MirTarBase.

Экспрессия miR-26b и miR-192 при меланоме снижена по сравнению с экспрессией в меланоцитах, при этом miR-26b является регулятором активности таких генов, как POU2F3, CBLC, CDK2, CDK6, CTH, SOX5, LY6D, SLC16A4, HOXB7, RASGRF1, SPRR1A, FGFR3, RGS20, RDGFRL, EPHA2, DSC1, MAGEA11, SERPINB5, TYMS, S100A7. Данные гены участвуют в процессах пролиферации и дифференцировки кератиноцитов и эпителиоцитов, клеточного цикла, синтеза цистеина, регуляции ГТФ-азной активности, некоторые из них являются протоонкогенами. MiR-192 также регулирует ряд важных генов, среди которых регуляторы клеточного цикла и контроля пролиферации. Введение данных ми-РНК в клетки, возможно, будет ингибировать действие сразу несколько генов, играющих ключевую роль в злокачественной трансформации, и будет способствовать возвращению неопластических клеток к

нормальному фенотипу. Так как экспрессия let-7b повышена при меланоме, то может использоваться в качестве мишени для ингибиторов ми-РНК.

Данный подход может быть перспективным при выборе ми-РНК для клеточной терапии и нуждается в дальнейшей разработке и экспериментальной проверке.

Работа была выполнена при поддержке гранта Министерства образования и науки РФ № 6.703.2014/К. Аналитические исследования выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования ЮФУ «Высокие технологии», грант 14.594.21.0002.

Рябинин В.Е.

РАЗРАБОТКА ОБЛАСТНОЙ ЦЕЛЕВОЙ ПРОГРАММЫ «НОВЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОКАЗАНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ НАСЕЛЕНИЮ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ»

ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет
Минздрава РФ, Челябинск, e-mail: veryabinin@mail.ru

Содержание проблемы и обоснование необходимости ее решения программными методами

Несмотря на достигнутые успехи, онкогематологические заболевания остаются наиболее тяжелой, дорогостоящей и социально значимой патологией (общая заболеваемость на 100000 населения Челябинской области составляет более 20 человек). Интенсивная полихимиотерапия в сочетании с трансплантацией стволовых клеток (ТСК) крови или костного мозга (ТКМ) является единственной возможностью достичь полного излечения подавляющего большинства больных с онкогематологическими заболеваниями. Проведение диагностического процесса и лечения в строгом соответствии с протоколами и нормативными документами требует значительных финансовых затрат, поэтому организация данного вида помощи возможна только при гарантированных регулярных государственных закупках лекарственных средств и расходных материалов. Установлены международный стандарт и требования для выполнения безопасной и эффективной ТКМ, включающие как минимум 10 однотипных трансплантаций в год (средняя стоимость курса лечения — 500000 руб.) после аккредитации соответствующей организации в МЗ РФ. Отсутствие финансовых ресурсов в системе обязательного медицинского страхования для оказания медицинской помощи больным указанного профиля с применением дорогостоящих высокоэффективных технологий обуславливает необходимость финансирования из областного бюджета. Применение ТСК при острых лейкозах, миелодиспластическом синдроме, апластической анемии, миеломной болезни, солидных опухолях, аутоиммунных болезнях (коллагенозы, рассеянный склероз) приводит к значительному улучшению результатов лечения. Развитие этих методов позволит более широко использовать ресурсосберегающие технологии в традиционном лечебном про-