

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИМЕНИ М.В.ЛОМОНОСОВА»

МЕДИЦИНСКИЙ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| УДК  Рег. N НИОКТР  Рег. N ИКРБС |  | УТВЕРЖДАЮ  Директор МНОЦ  МГУ имени М.В. Ломоносова академик РАН  \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ А.А. Камалов  «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2019 г. |

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

по теме:

Образовательные технологии в регенеративной медицине: разработка и внедрение программ фундаментальной, практической и производственной подготовки специалистов

шифр МНОЦ-2019-ГЗН-04

(промежуточный)

Заместитель директора

научной работе,

д.м.н., чл.-корр. РАН \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ С.Т. Мацкеплишвили

Координатор темы

д.б.н., академик РАН

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ В.А. Ткачук

**Москва 2019**

# 

# **СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Должность, ученая степень, звание |  |  |
| Руководитель НИР  директор Института регенеративной медицины МНОЦ, академик РАН | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Ткачук В.А.  (все разделы) |
|  |  |  |
| Ответственный исполнитель |  |  |
| К.м.н., заведующий лабораторией генно-клеточной терапии Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Макаревич П.И.  (все разделы) |
|  |  |  |
| Исполнители |  |  |
| К.м.н., ведущий научный сотрудник Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Акопян Ж.А.  (все разделы) |
|  |  |  |
| ведущий инженер Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Бедарева И.В.  (разделы 2 и 3) |
|  |  |  |
| К.б.н., младший научный сотрудник лаборатории репарации и регенерации тканей Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Григорьева О.А.  (раздел 2) |
|  |  |  |
| м.н.с. лаборатории генно-клеточной терапии Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Еремичев Р.Ю.  (разделы 1 и 3) |
|  |  |  |
| К.м.н., зав. лабораторией репарации и регенерации тканей Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Ефименко А.Ю.  (раздел 3) |
|  |  |  |
| К.б.н., старший научный сотрудник Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Карагяур М.Н.  (разделы 1 и 3) |
|  |  |  |
| вед. инженер лаборатории генно-клеточной терапии Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Квятковский А.Я.  (разделы 2 и 3) |
|  |  |  |
| лаборант-исследователь лаборатории генно-клеточной терапии Института регенеративной медицины | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Слободкина Е.А.  (раздел 1) |
|  |  |  |
| К.э.н., старший научный сотрудник отдела научных программ и инновационных технологий МНОЦ | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  подпись, дата | Тарасова Е.В.  (все разделы) |

# **РЕФЕРАТ**

Отчет на 25 с., без рис., без табл., 1 прил.

Ключевые слова: РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА, БИОМЕДИЦИНСКИЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ, ПОСТДИПЛОМНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ, КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ, ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ, БИОМЕДИЦИНА, ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА

Работа выполняется на основании утвержденного плана реализации тематик государственного задания, выполняемого на базе Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова с целью разработки образовательных технологий для обеспечения биомедицинской отрасли высококвалифицированными специалистами, имеющими компетенции как в области фундаментальных основ регенеративной медицины, так и в разработке прикладных методик, используемых в этой области.

Целью выполнения НИР является создание научных и методических основ для подготовки специалистов в области регенеративной медицины, производства и разработки биомедицинских клеточных продуктов (БМКП), а также их экспертной оценки.

В ходе выполнения НИР получены следующие научные и аналитические результаты:

- продолжено внедрение программы повышения квалификации специалистов с высшим образованием «Основы клеточных технологий и методов культивирования клеток млекопитающих» объемом 36 ч на базе МГУ организован; всего за отчетный период проведено 3 набора (в среднем 5 слушателей на 1 курс), успешно завершивших и аттестованных по программе, сформирован состав слушателей данной программы на 2020 год.

- в рамках подготовки к созданию магистратуры и повышения квалификации для специалистов с высшим образованием разработана и внедрена на базе МГУ программа повышения квалификации «Основы регенеративной медицины и применения биомедицинских клеточных продуктов». Программа направлена на совершенствование и повышение профессионального уровня в рамках имеющейся квалификации с целью подготовки к аттестации уполномоченного лица производителя БМКП. Учебная нагрузка по разработанной программе повышения квалификации составляет 144 часа. В 2019 году проведен 1 набор из 9 слушателей, успешно завершивших обучение по программе и аттестованных по итогам курса и защиты проектов.

- в рамках поисковой научной работы исследован вопрос о важности белков, сектерируемых МСК для создания ниши и окружения клеток, необходимого для регенерации и обновления гонад с успешным сперматогенезом. По итогам этой работы опубликован обзор литературы, содержащий частично и собственные данные, а проведены опыты на животной модели, успешно показавшие эффективность разработанного подхода к восстановлению микрокружения ниши ССЕ при участии секретома МСК. Продемонстрированы уникальные свойства растворимых факторов окружения, сопровождающего безрубцовое заживление ткани, подана патентная заявка

Область применения разработки: образовательные программы будут использованы в процессе обучения и переподготовки специалистов в области разработки, производства, применения и экспертизы биомедицинских клеточных продуктов. Экспериментальные наработки в дальнейшем могут быть использованы для доклинических исследований эффективности и безопасности оригинального метода, по сути представляющего собой «клеточную терапию без клеток». В перспективе данная часть работы может быть выделена в самостоятельную НИР с высоким потенциалом для трансляции в клинику.

Для достижения цели исследования необходимо продолжение разработки образовательных программ и их апробация на профильных категориях слушателей, а также поиск новых объектов для использования в разработке биомедицинских клеточных продуктов на основе фундаментальных исследований. Ход выполнения проекта позволяет рассчитывать на дальнейшее получение всех запланированных результатов в срок.

СОДЕРЖАНИЕ

[СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ 2](#_Toc28347810)

[РЕФЕРАТ 4](#_Toc28347811)

[НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ 8](#_Toc28347812)

[ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ 8](#_Toc28347813)

[ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ 9](#_Toc28347814)

[ВВЕДЕНИЕ 10](#_Toc28347815)

[ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ ОТЧЕТА О НИР 12](#_Toc28347816)

[1 ВНЕДРЕНИЕ ПРОГРАММЫ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ «ОСНОВЫ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И МЕТОДОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ» 12](#_Toc28347817)

[2 РАЗРАБОТКА И ВНЕДРЕНИЕ ПРОГРАММЫ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ «ОСНОВЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ» 14](#_Toc28347818)

[3 РАЗРАБОТКА ПРОГРАММЫ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ "ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ" 17](#_Toc28347819)

[3 ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СЕКРЕТОМА МСК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФУНКЦИИ СПЕРМАТОГЕННОЙ НИШИ У КРЫСЫ 21](#_Toc28347820)

[ЗАКЛЮЧЕНИЕ 24](#_Toc28347821)

[ПРИЛОЖЕНИЕ А 25](#_Toc28347822)

# НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящем отчете о НИР использованы ссылки на следующие стандарты и нормативные правовые акты:

1. Федеральный закон №180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» от 23.06.2016 (вступил в силу с 01.01.2017)
2. ГОСТ 7.32-2001 Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления;
3. ГОСТ 15.101-98 Порядок выполнения научно-исследовательских работ.

# ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Биомедицинский клеточный продукт– комплекс, состоящий из клеточной линии (клеточных линий) и вспомогательных веществ либо из клеточной линии (клеточных линий) и вспомогательных веществ в сочетании с прошедшими государственную регистрацию лекарственными препаратами для медицинского применения (далее - лекарственные препараты) и (или) медицинскими изделиями.[[1]](#footnote-1)

Регенеративная медицина- перспективное направление биомедицины, задачей которого является запуск регенерации или создание тканей и органов, утраченных из-за болезни или травмы. Основными направлениями регенеративной медицины являются: 1) клеточная терапия; 2) генная терапия; 3) тканевая инженерия и искусственные органы; 4) фармакологическая регуляция обновления и гибели клеток.

# ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие сокращения и обозначения:

|  |  |
| --- | --- |
| БМКП | Биомедицинский клеточный продукт |
| МСК | Мезенхимная стромальная/стволовая клетка |
| ССК | Сперматогониальная стволовая клетка |
| СК | Стволовая клетка |
| ФЗ | Федеральный закон |

# ВВЕДЕНИЕ

Регенеративная медицина в настоящее время проходит важную точку переосмысления ее методологии с позиции фундаментальной науки, а многие подходы стали основываться не на эмпирических данных, а на конвергенции с физиологией и регенеративной биологией, описывающих общие закономерности процессов образования и обновления тканей.

Ключевым аспектом для поддержания темпов развития этого перспективного направления как регенеративная медицина является подготовка специалистов, способных решать задачи как в области фундаментальных работ, так и по разработке новых продуктов, обладающих трансляционным и практическим потенциалом, а также достаточной новизной для конкуренции на мировой арене.

Образовательные технологии являются определяющими для всего направления и создают полноценную среду для появления прорывных разработок в этой области. Регенеративная медицина является междисциплинарным направлением, объединяющим клеточных биологов, биохимиков, эмбриологов, специалистов по фармакологии и биоэтике.

На настоящем этапе целями НИР являлось:

- разработка образовательного курса по основам регенеративной медицины и применения биомедицинских клеточных продуктов (БМКП);

- разработка образовательного курса по теории и практике редактирования генома клеток млекопитающих;

- продолжение внедрения образовательной программы, разработанной на предыдущих этапах НИР;

- продолжение поисковой работы в области фундаментальных механизмов регуляции регенеративных процессов для формирования научной базы и создания новых методов регенеративной медицины.

Обоснованием для проведения НИР является выполнение государственного задания согласно утвержденного перечня тематик МГУ имени М.В. Ломоносова. Выполнение данной НИР вносит вклад в обеспечение специалистами с квалификацией, соответствующей междисциплинарному характеру регенеративной медицины, требующей многопрофильной подготовки в фундаментальных науках, медицине, биоэтике и правовом регулировании обращения используемых в этой облатси продуктов.

Тематика НИР соответствует подпрограмме 3 государственной программы Российской Федерации "Развитие здравоохранения". Подпрограмма 3 "Развитие и внедрение инновационных методов диагностики, профилактики и лечения, а также основ персонализированной медицины". В рамках данного направления НИР вносит свой клад в решение задач по созданию условий для высококачественной диагностики и лечения больных, разработки инновационных средств диагностики и лекарственных препаратов, а также повышения эффективности реализации медико-технических проектов в области здравоохранения, направленных на раннюю диагностику, эффективное лечение, реабилитацию больных с целью максимального сокращения сроков восстановления их трудоспособности.

Основными результатами выполняемой НИР являются как образовательные программы в интересах подготовки специалистов в области создания и производства БМКП, так и фундаментальные данные, касающиеся механизмов регенерации при участии стволовых и стромальных клеток взрослого организма. На данном этапе проекта были проведены наборы слушателей на разработанные программы повышения квалификации и успешно проведены циклы обучения с выпуском и аттестацией слушателей.

# ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ ОТЧЕТА О НИР

# 1 ВНЕДРЕНИЕ ПРОГРАММЫ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ «ОСНОВЫ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И МЕТОДОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ»

Программа повышения квалификации по программе «Основы клеточных технологий и методов культивирования клеток млекопитающих» объемом 36 ч был разработан на предыдущих этапах выполнения НИР. Его задачей является повышение квалификации в ходе освоения курса в соответствии с учебным планом теоретически и практически освоят методы культивирования клеток эукариот. Особое внимание уделяется приобретению практических навыков рутинных процедур с линейными клетками, проводимых в стерильных условиях, а также организации культуральной работы. Подготовка специалистов предусматривает дальнейшую возможность самостоятельно организовать и обеспечить работу культурального блока или использовать полученные знания в своей работе по основной специальности.

На отчетном этапе НИР на базе Института регенеративной медицины МНОЦ преподавателями - к.б.н. м.н.с. О.А. Григорьевой и лаборантом-исследователем Н.А. Александрушкиной – было проведено 3 цикла занятий объемом 36 часов, средняя численность группы – 5 слушателей. В рамках внедрения программы повышения квалификации в составе курса был прочитан теоретический цикле лекций, а также дан и практический курс по обучению базовым навыком работы в культуральном блоке в асептических условиях, необходимых для культивирования клеток человека. В рамках теоретического курса ответственным исполнителем П.И. Макаревичем в проведено занятие по нормативно-правовому статусу биомедицинских клеточных продуктов (БМКП), определяемому Федеральным законом №180-ФЗ и основным нормативным актам, регламентирующим проведение доклинических исследований, производство и проведение клинических исследований БМКП.

В рамках настоящего этапа НИР все слушатели полностью выполнили программу курса, успешно прошли итоговую аттестацию, получив удостоверения о повышении квалификации на базе МГУ имени М.В. Ломоносова.

Среди слушателей курса были врачи, ветеринары, а также специалисты в области клеточной биологии, фармацевтики, биохимии, фармакологии и экспериментальной физиологии. Слушателями курса стали сотрудники ряда научно-производственных компаний, а также бюджетных учреждений, выполняющих исследования в области фундаментальной и медицинской науки (Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, Тверского государственного медицинского университета, Белгородского медицинского университета и др.)

С учетом объема практической работы и необходимости индивидуального обучения ряду манипуляций в обучение будет продолжено поточным способом в группах до 6 человек для обеспечения полноценного охвата информацией всех слушателей. Для этого сформирован список ожидания на следующие 2 потока, которые планируется провести в течение 2020 года.

Таким образом, внедрение ранее разработанной программы повышения квалификации велось соответствии с планом выполнения НИР и задачами этапа 2019 года. Заложенный по итогам предыдущего этапа объем слушателей прошел программу повышения квалификации (3 потока) и успешно завершил обучение.

# 2 РАЗРАБОТКА И ВНЕДРЕНИЕ ПРОГРАММЫ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ «ОСНОВЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ»

В настоящее время в РФ после разработки необходимых подзаконных актов Федерального закона №180-ФЗ, используемых для регулирования обращения БМКП, возникла потребность в обучении специалистов, владеющих помимо фундаментальной подготовки знаниями и компетенциями в области разработки, производства, испытаний и регистрации БМКП и продуктов для генной терапии, относящихся к БМКП (в т.ч. генетически модифицированных клеточных продуктов). Помимо этого, нормативные требования устанавливают необходимость аттестации ряда должностных лиц, которые участвуют в процессе производства, экспертизы и регистрации БМКП. Однако в большинстве случаев в рамках существующих ФГОС и образовательных программ не предусматривается обучение и предоставление компетенций, по набору которых специалист соответствовал бы требованиям аттестационных комиссий, созданных на базе Минздрава, Росздравнадзора и Центра экспертизы средств медицинского применения.

Разработанная в рамках отчетного этапа НИР программа повышения квалификации «Основы регенеративной медицины и применения биомедицинских клеточных продуктов» направлена на совершенствование и повышение профессионального уровня в рамках имеющейся квалификации с целью подготовки к аттестации уполномоченного лица производителя биомедицинского клеточного продукта в соответствии с установленными требованиями к уровню образования и квалификации указанного уполномоченного лица и его полномочий по обеспечению качества биомедицинского клеточного продукта, вводимого в обращение, в соответствии с правилами надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами. Учебная нагрузка по разработанной программе повышения квалификации составляет 144 часа.

Программа предназначена для специалистов, имеющих высшее фармацевтическое, медицинское, биологическое, ветеринарное, химическое, биотехнологическое образование. Обучение по программе складывается из аудиторной учебной работы (лекции, практические занятия) и внеаудиторной самостоятельной подготовки. Также в рамках итоговой аттестации предусмотрена защита проектов, в которых слушатели проводят анализ перспективного БМКП и предлагают проект программы его доклинической и клинической разработки с учетом требований действующих в РФ нормативных требований и порядка обращения, установленного Федеральным законом №180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах».

Ключевые тематики программы повышения квалификации разделены на модули объемом от 2 до 4 лекций, в которых раскрывается широкий спектр вопросов - от фундаментальных основ регенерации до частных задач создания производственной площадки, разработки программ доклинических и клинических исследований БМКП в целях государственной регистрации.

Основные модули программы повышения квалификации освещают следующие тематики, логичным образом ведущие слушателя от основ клеточной биологии и регуляции регенеративных процессов к практическим аспектам разработки и производства БМКП:

1. Фундаментальные основы обновления тканей и регенеративной медицины
2. Лаборатория по разработке клеточных продуктов: организационные и методические вопросы
3. Нормативно-правовые аспекты регенеративной медицины и надлежащие практики
4. Клиническое применение клеточных продуктов
5. Обзор рынка регенеративной медицины
6. Фармакоэкономика и маркетинг
7. Регенеративная медицина с позиции организации здравоохранения

В рамках внедрения разработанной программы повышения квалификации нами был проведен набор слушателей (9 человек), которые в течение сентября-октября 2019 года прошли полный курс программы и были успешно аттестованы по итогам защиты проектов.

Среди слушателей были как представители частных компаний (АО «Генериум», ЗАО «Фармсинтез», ООО «Покровский банк стволовых клеток»), так и бюджетных учреждений, ведущих научную работу в области клинической и регенеративной медицины (ДГОИ имени Димы Рогачева, ЦИТО им. Н.М. Приорова и др.).

По итогам проведения программы повышения квалификации ее было рекомендовано расширить для соответствия требования аттестации на должность уполномоченного лица по контролю качества при производстве БМКП. Данная должность является необходимой для лицензирования производства БМКП в соответствии с установленными правилами надлежащей практики при работе с БМКП.

Выполнение данного раздела НИР полностью отвечает задачам этапа и вносит вклад в формирование междисциплинарной образовательной среды, необходимой для подготовки и переподготовки специалистов, которым в будущем предстоит обеспечивать обращение и внедрение БМКП в соответствии с действующим в РФ законодательством.

# 3 РАЗРАБОТКА ПРОГРАММЫ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ "ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ"

Поворотной точкой в области развития технологий редактирования генома (ТРГ), по мнению многих экспертов, стал 2012 год, когда Фенг Джанг и Дженнифер Дудна независимо друг от друга предложили использовать систему адаптивного бактериального иммунитета CRISPR/Cas9 для редактирования генома живых клеток эукариотических организмов. С тех пор спектр областей применения технологии CRISPR/Cas9 и родственных ей ТРГ продолжает лавинообразно расти: с их помощью создаются генетически модифицированные микроорганизмы, растения и животные, значительно расширяются возможности экспериментальных методов изучения генетических основ жизни, разрабатываются революционные подходы к терапии и профилактике ранее неизлечимых заболеваний. Неоспоримые преимущества ТРГ оказались неизбежно сопряжены с высокими реальными и потенциальными рисками для экологии, здоровья человека и общества в целом.

Редактирование генома клеток млекопитающих с помощью системы CRISPR/Cas9 является одним из ключевых методов для модификации генетического материала клеток, в том числе стволовых и прогениторных. В будущем данная технология несомненно станет одним из флагманских методов генной и клеточной терапии. Спектр ее применения необычайно широк – начиная от исправления наследственных дефектов, приводящих к развитию моногенных заболеваний и заканчивая направленной Cas9-VP64 активацией экспрессии конкретных генов для стимуляции регенеративных процессов.

Серьезным барьером для ее развития в настоящее время стал дефицит специалистов, которые были бы компетентны как в области молекулярных механизмов функционирования ТРГ, так и в области использования их в медицинских целях. Такого рода специалисты помимо научной компетенции должны иметь понимание рисков использования ТРГ и способов их оценки, которая необходима для трансляционных исследований и создания продуктов для лечения наследственных, орфанных и онкологических заболеваний.

Курс адресован слушателям с высшим образованием по следующим специальностям – врач, биолог, биотехнолог, химик, ветеринар. Педагогическая нагрузка по данной программе повышения квалификации составила 72 часа.

Основные модули программы повышения квалификации освещают следующие тематики:

1. Методы редактирования генома: теория
2. Методы редактирования генома: практика
3. Методы анализа генно-модифицированных культур клеток

Особенную ценность для слушателя в данной программе представляют практические занятия по следующим темам (входят в модуль 2 «Методы редактирования генома: практика):

1. Сборка генетической конструкции, кодирующей компоненты системы CRISPR/Cas9 (8 ч)
2. Размораживание и посев клеточных культур, предназначенных для модификации (3 ч)
3. Очистка и анализ генетической конструкции, кодирующей компоненты системы CRISPR/Cas9, методом ПЦР (4 ч)
4. Анализ генетической конструкции, кодирующей компоненты системы CRISPR/Cas9, методом рестрикционного анализа (3 ч)
5. Генетическая модификация клеточной культуры (2 ч)

Программа была составлена при участии специалистов, имеющих компетенции в широком спектре вопросов, связанных с использованием ТРГ – начиная от молекулярных основ использования системы CRISPR/Cas9 и заканчивая биоэтическими проблемами их применения в отношении человеческих клеток.

1. Карагяур Максим Николаевич, к.б.н., старший научный сотрудник Института регенеративной медицины МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова (руководитель программы)
2. Григорьева Ольга Александровна, к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории репарации и регенерации ткани Института регенеративной медицины МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова;
3. Акопян Жанна Алексеевна, к.м.н., заместитель директора МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова
4. Ткачук Всеволод Арсеньевич, д.б.н., директор Института регенеративной медицины МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова, заведующий кафедрой биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова.

По итогам разработки программы повышения квалификации запланировано проведения первого набора слушателей в первом полугодии 2020 года с возможностью проведения второго потока данного курса во втором полугодии.

# 3 ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СЕКРЕТОМА МСК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФУНКЦИИ СПЕРМАТОГЕННОЙ НИШИ У КРЫСЫ

Мужское бесплодие является серьезной медицинской и социальной проблемой. Около 10% пар в мире бесплодны, причем в половине случаев основной вклад вносит мужской фактор (Agarwal et al., 2015). Несмотря на попытки исследователей и врачей установить причины нарушений мужской фертильности, 40-60% случаев нарушений сперматогенеза являются идиопатическими (Pierik et al., 2000; Punab et al., 2016) и плохо поддаются терапии. Выбор метода лечения осложнен также многофакторной природой мужского бесплодия. Таким образом, актуальной задачей является поиск новых терапевтических мишеней, воздействие на которые может способствовать восстановлению сперматогенеза.

В рамках выполнения данного раздела НИР нами был предложен оригинальный подход по стимуляции регенерации пиши сперматогониальной стволовой клетки (ССК) с помощью введения секретома мезенхимных стромальных клеток (МСК) жировой ткани человека, содержащего факторы роста и цитокины, являющиеся ключевыми регуляторами функционирования ниши и поддерживающих клеток в ее составе. Основные выводы приведены ниже, детали выполнения НИР и описание методологии приведены в автореферате диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Г.Д. Сагарадзе.

Основные выводы, обобщающие результаты по итогам данного раздела НИР:

1. Впервые теоретически и экспериментально обоснована возможность модуляции ниши сперматогониальной стволовой клетки с помощью секретома МСК.

2. Разработана технология получения и предложены подходы к стандартизации субстанции на основе секретома МСК человека с использованием длительного кондиционирования клеток в бессывороточной среде известного состава, не содержащей ксеногенных компонентов.

3. Установлено, что в секретоме МСК содержатся белково-пептидные факторы: фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста фибробластов 2 типа (FGF2), фактор роста гепатоцитов (HGF), ангиопоэтин 1 типа (Angpt-1), фактор, происходящий из пигментного эпителия (PEDF), глиальный нейротрофический фактор (GDNF), в определенных концентрациях. Показана перспективность применения регрессионного анализа для стандартизации субстанции на основе секретома МСК человека на основе установленных концентраций факторов Angpt-1 и FGF2.

4. Для оценки регенераторного потенциала секретома МСК для восстановления сперматогенеза после повреждения ниши ССК предложена модель двустороннего абдоминального крипторхизма у крыс. Установлены следующие критерии развития патологии: уменьшение количества клеток сперматогенного эпителия и клеток Сертоли в семенных канальцах, уменьшение количества функциональных семенных канальцев, гиперплазия интерстиция, уменьшение массы яичек. Показано, что критериями восстановления сперматогенеза являются увеличение относительной концентрации тестостерона и количества восстанавливающихся семенных канальцев.

5. Выявлены регенераторные эффекты секретома МСК на модели нарушения сперматогенеза у крыс, вызванной моделированием крипторхизма. Показано, что при локальном введении секретома МСК восстанавливается фертильность крыс-самцов, что проявляется увеличением количества потомства у экспериментальных животных.

6. Предложена гипотеза, объясняющая возможные механизмы действия, опосредующие восстановление сперматогенеза при локальном введении секретома МСК. Предположительно, регенераторные эффекты секретома МСК реализуются преимущественно на уровне поддерживающих клеток ниши ССК.

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На данном этапе реализации НИР были выполнены все работы, которые были запланированы для решения задач и достижения целей этапа.

В частности, продолжено внедрение программы «Основы клеточных технологий и методов культивирования клеток млекопитающих», потоки слушателей в течение отчетного года прошли обучение в полном объеме, сформированы списки ожидания на 2020 год. Разработана и внедрена программа повышения квалификации «Основы регенеративной медицины и применения биомедицинских клеточных продуктов», в дальнейшем будет проведена работа по ее внедрению как подготовительной к аттестации уполномоченных лиц по производству БМКП. Успешно разработан и утвержден план курса «Теория и практика редактирования генома клеток млекопитающих», закрывающего собой такую важную и острую тему современной биомедицины, как технологии редактирования генома (ТРГ).

В рамках поисковой части работы получены результаты, касающиеся такого важного направления регенеративной медицины, как регуляция функционирования ниши стволовой клетки. На основе полученных нами данных был разработан перспективный способ стимуляции регенеративных процессов, основанный на использовании секретома МСК человека для восстановления сперматогенеза и мужской фертильности.

Таким образом, все задачи этапа были выполнены в полном объеме и в срок, полученные результаты позволяют рассчитывать на успешное выполнение НИР на последующих этапах. Публикационные индикаторы были выполнены, а квалификация коллектива исполнителей позволяет рассчитывать и на дальнейшее успешное соблюдение им требований по публикационной активности.

# ПРИЛОЖЕНИЕ А

ИНДИКАТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

за 2019 год выполнения НИР по теме «Образовательные технологии в регенеративной медицине: разработка и внедрение программ фундаментальной, практической и производственной подготовки специалистов»

шифр МНОЦ-2019-ГЗН-04

|  |  |
| --- | --- |
| Наименование показателя |  |
| 1. Количество публикаций в журналах, индексируемых в базе данных «Сеть науки» (WEB of Science) | 1 |
| 2. Количество публикаций в журналах, индексируемых в базе данных Scopus | 1 |
| 3. Количество публикаций в журналах, индексируемых в российских и международных информационно-аналитических системах научного цитирования (Российский индекс научного цитирования, Google Scholar и др.) | 1 |
| 4. Количество выступлений на конференциях по тематике исследования | 1 |
| 1. Количество защищенных диссертаций на соискание степени кандидата наук по теме исследования | 1 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Наименование показателя** | **План** | **Выполнение** |
| 1. Количество публикаций в журналах, индексируемых в базе данных «Сеть науки» (WEB of Science) | 1 | 1/1 (100%) |
| 2. Количество публикаций в журналах, индексируемых в базе данных Scopus | 1 | 1/1 (100%) |
| 3. Количество публикаций в журналах, индексируемых в российских и международных информационно-аналитических системах научного цитирования (Российский индекс научного цитирования, Google Scholar и др.) | 1 | 1/1 (100%) |
| 4. Количество выступлений на конференциях по тематике исследования | 1 | 1/1 (100%) |
| 5. Количество патентов | 1 | 1/1 (100%) |

1. Список публикаций в научных журналах

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п |  | Web of Science | Scopus | РИНЦ, Google Scholar и др. |
| 1 | Nimiritsky, P.P.; Eremichev, R.Y.; Alexandrushkina, N.A.; Efimenko, A.Y.; Tkachuk, V.A.; Makarevich, P.I. Unveiling Mesenchymal Stromal Cells’ Organizing Function in Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, *20*, 823. | Да | Да | Да |

1. Конференции, на которых были доложены результаты исследований

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п/п | Конференция | Кол-во докладов |
| 1 | «Тканеспецифичные мультипотентные стромальные клетки как организаторы процесса восстановления ткани после повреждения» (устный доклад). Автор: Макаревич П.И. IV Национальной конгресс по регенеративной медицине, Россия, 20-23 ноября 2019 | 1 |

1. Диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п/п | Название, специальность, соискатель и дата защиты | Кол-во докладов |
| 1 | «Участие секретома мезенхимных стромальных клеток в восстановлении сперматогенеза», диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.03.01 (Физиология) и 14.03.06 (Фармакология, клиническая фармакология). Соискатель: Сагарадзе Г.Д., дата защиты: 18.11.2019, диссертационный совет МГУ.03.06 | 1 |

1. В соответствии с п.1 ст.2 Федерального закона №180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» [↑](#footnote-ref-1)