

Белякова М.Б., Волкова О.В., Егорова Е.Н., Калинкин М.Н., Костюк Н.В., Лещенко Д.В., Миняев М.Н., Павлова Н.В., Петрова М.Б., Харитонова Е.А., Черноруцкий М.В.

60 ЛЕТ ИССЛЕДОВАНИЙ: ОТ ПРОБЛЕМ РЕГЕНЕРАЦИИ К РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России

Аннотация. Статья отражает основные исторические вехи становления в Тверском государственном медицинском университете научного направления, посвященного изучению проблем регенерации.

Ключевые слова: регенерация, регенеративная медицина, история науки, Тверской государственный медицинский университет.

60 YEARS OF RESEARCH: FROM PROBLEMS OF REGENERATION TO REGENERATIVE MEDICINE

Belyakova M.B., Volkova O.V., Egorova E.N., Kalinkin M.N., Kostiuk N.V., Leshchenko D.V., Miniaev M.V., Pavlova N.V., Petrova M.B., Kharitonova E.A., Chernorutskiy M.V.

Tver State Medical University

Abstract: The article represents the main historical stages in the formation of scientific direction devoted to the study of the regeneration problems at the Tver State Medical University.

Key-words: regeneration, regenerative medicine, history of science, Tver State Medical University.

Разработка научного направления «Основные закономерности регенерации и морфогенеза тканей» была начата на кафедре биологии на тот момент Калининского медицинского института с 1957 г. под руководством профессора Г.В.Хомулло. В последующие годы в реализации исследований участвовали не только сотрудники кафедры биологии, но и других подразделений нашего вуза и научные сотрудники Всесоюзного НИИ технологии кровезаменителей и гормональных препаратов (г. Москва). Экспериментальными моделями исследований служили асептические, ожоговые, инфицированные дефекты кожи, линейные раны и костные переломы, заживление которых изучалось в условиях применения различных стимулирующих факторов. В качестве последних использовались различные гормоны (тироксин, кальцитонин, тиротропный и соматотропный гормоны гипофиза), предоставляемые Всесоюзным НИИ технологии кровезаменителей и гормональных препаратов, биологически активные вещества (гиалуроновая кислота, хитозан) и физические факторы (электропунктура, лазерное и магнитолазерное излучения). Исследования по проблеме репаративной регенерации в начале были акцентированы на изучении и накоплении морфологических данных (от ультраструктурных изменений до тканевых и органных). Было показано, что репаративные процессы при использовании гормонов, низкоинтенсивного лазерного [16], магнитолазерного излучения, гиалуроновой кислоты [20], электропунктуры, хитозана [24] протекают интенсивнее, что обусловлено ограничением деструктивного процесса в пределах эпидермиса и дермы, отсутствием гнойнонекротических осложнений в процессе заживления дефекта. Такое течение репаративного процесса в коже обеспечивало более раннее формирование новообразованной соединительной ткани, ее эпителизацию с нормализацией процессов пролиферации и дифференцировки эпидермоцитов. Полученные результаты дали возможность доказать стимулирующий эффект изученных факторов и тем самым обосновать их использование в клинической практике.

В дальнейшем разработка проблемы стимуляции репаративных процессов в тканях и органах была сосредоточена на иммуно-биохимических её аспектах. Изучалось влияние ранозаживляющих препаратов на основе цитокинов с другим механизмом действия, позволяющим управлять стадией воспаления репарации [18]. В частности, было установлено, что провоспалительные цитокины активизируют хемотаксис нейтрофилов, их функциональную активность уже с первых часов регенерации дефекта кожи, что ведет к бурной воспалительной реакции и быстрому очищению раневого поля от инфекционных агентов. Однако противовоспалительные цитокины не дают процессу принять гиперэргический характер с аутолизом неповрежденных тканей, что приводит к уменьшению времени восстановления раневого дефекта [19].

Параллельно проводились исследования на другой модели – линейной резаной раны кожи и оценке влияния биологически активных шовных материалов на процессы восстановления органа [11,12]. Результатами научного сотрудничества с кафедрой общей хирургии университета стали успешные защиты двух диссертаций на соискание степени кандидата медицинских наук.

Новый этап разработки научного направления был обусловлен применением в качестве репарантов гелевых нанокомпозиций с оценкой целесообразности применения, эффективности их влияния на репаративные процессы в коже и антибактериальной активности [17,25]. Проект награжден дипломом финалиста конкурса НИР «Эстафета вузовской науки – 2015».

С 2009 г. активно развивается плодотворное научное сотрудничество со Всероссийским Научным Центром Биологически Активных Веществ (г. Старая Купавна), направленное на оценку репаративного потенциала новых производных ацексамовой кислоты на моделях костного перелома и термического ожога кожи. Задачами исследования, помимо констатации клинического эффекта этих препаратов, являются установление биохимических механизмов, лежащих в основе их стимулирующего действия. Исследования последних лет показали, что местная обработка термических ожогов у животных мазью, содержащей новое производное ацексамовой кислоты, сокращает сроки их заживления и происходит на фоне снижения выраженности оксидативного стресса и активности матриксной металлопротеиназы 9 типа при продолжении процессов ремоделирования регенерирующих тканей [1,2,23]. Полученные данные являются патогенетическим обоснованием применения данного вещества для лечения термических ожогов кожи.

По результатам научных исследований защищено 2 докторских, 25 кандидатских диссертаций; издано 2 монографии; сделаны доклады на международных и всероссийских съездах и конференциях; получено 4 патента на изобретения, 3 свидетельства ноу-хау.

Начиная с 2014 г. появилась возможность перейти от организменных моделей регенерации к клеточным. Точной отсчета стало заключение договора о сотрудничестве между Тверским ГМУ и факультетом фундаментальной медицины МГУ. В рамках этого договора несколько сотрудников нашего вуза прошли научную стажировку и обучение методам работы с клеточными культурами в одном из наиболее уважаемых коллективов, занимающихся проблемами регенеративной медицины.

В настоящее время экспериментальная работа в области регенеративной медицины ведется силами трех кафедр вуза: кафедры биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики, кафедры биологии и кафедры патологической физиологии, а также сотрудником научно-исследовательской лаборатории (ранее НИЦ). Лабораторная база, специализированная на выращивании клеток, разместилась на кафедре биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики. Имеющееся оборудование позволяет осуществлять полный цикл операций по выделению клеток из различных тканей человека и животных с последующим их переводом в искусственные условия. Есть система визуализации клеток и фотодокументирования, собственными силами разрабатывается программно-аппаратный комплекс видеофиксации в режиме реального времени. Постоянно расширяется спектр

методов верификации разных типов клеточной дифференцировки. Благодаря криоконсервации создается коллекция наиболее интересных клеточных образцов.

Первоначально исследования научного коллектива были ограничены типичным для регенеративной медицины объектом – мультипотентными мезенхимными стромальными клетками (МСК) жировой ткани. В последствие вектор интереса переместился на мало изученный, но не менее перспективный объект – дедифференцированные жировые клетки (ДЖК). Эти клетки, сочетающие в себе высокий пролиферативный потенциал и способность к мультилинейной дифференцировке, могут быть получены практически в любых количествах из обычных зрелых адипоцитов.

В рамках НИОКР «Исследование механизмов адипогенной дифференцировки мезенхимальных стромальных клеток» подтверждена гетерогенность популяций МСК на микроскопическом и ультрамикроскопическом уровне [3,21]. Показана связь между кинетикой роста клеточных популяций, соотношением в них разных морфологических форм, дифференцировочным потенциалом с одной стороны и адгезивными свойствами поверхности, физико-химическими характеристиками и составом питательной среды с другой [3,14,13]. Подготовлены методические основы для нового способа комплексной оценки качества кондиционированных сред на базе их кристалломорфологических картин [22].

Новая НИОКР «Исследования обратимости дифференцировки адипоцитов в культуре клеток и на животных моделях» позволила в плотную заняться вопросами клеточного перепрограммирования и трансдифференцировки. Обнаружено, что клетки жировой ткани могут неоднократно проходить циклы дифференцировки-дедифференцировки, сохраняя при этом мультилинейный потенциал [7,4]. Проведена оценка влияния метаболических факторов и к

о
н
т
а
к

т За прошедшие 6 лет на счету научного коллектива, работающего с культурами клеток, уже более 35 публикаций, в том числе 14 в журналах, рекомендованных ВАК и входящих в международные базы цитирования. Результаты исследований представлены на 12 конференциях разного уровня, в том числе на престижных тематических площадках: III и IV Национальных конгрессах по регенеративной медицине (Москва, 2017, 2019), конференции StemCellBio-2018 (г. Санкт-Петербург, 2018). Получено 2 патента и 5 свидетельств ноу-хау [9,10].

к Большое внимание уделяется подготовке молодых научных кадров. Некоторые ребята, пришедшие в лабораторию студентами-первокурсниками, прошли долгий путь становления и уже поступили в ординатуру, аспирантуру. Они успешно представляли результаты собственных исследований на итоговых студенческих конференциях нашего вуза, на всероссийских и международных форумах. Их работы отмечены 7 дипломами разного уровня.

н История изучения проблем регенерации в Тверском государственном медицинском университете служит отражением тенденций развития медицинской науки в целом. За прошедшие десятилетия научное направление прошло долгий путь от организменных до клеточных моделей, от световой микроскопии до электронной и флуоресцентной, от простых гистологических до современных прецизионных методов. В рамках научного направления выросло несколько поколений научных кадров, работающих в разных сферах системы здравоохранения. Бережное отношение к сложившимся традициям сегодня дает основание надеяться на сохранение преемственности в будущем.

е
д
и
ф
ф
е
р
е
н

Литература

1. Андрианова Е.В., Петровская М.А., Петрова М.Б., Егорова Е.Н., Скачилова С.Я., Павлова Н.В., Харитонова Е.А. Динамика показателей оксидативного стресса и планиметрическая оценка ожоговых ран при лечении новым производным N-ацетил-6-аминогексановой кислоты // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – N 3.

И Андрианова Е.В., Егорова Е.Н., Петрова М.Б., Петровская М.А., Скачилова С.Я. Динамика металлопротеиназной активности как показатель прорегенераторных свойств нового производного N-ацетил-6-аминогексановой кислоты при лечении ожогов // Вопросы Биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23. – N 10. – С. 46-52.

3. Белякова М.Б., Костюк Н.В., Петрова М.Б., Егорова Е.Н., Янковский В.Л., Харитонова Е.А., Павлова Н.В., Черноруцкий М.В., Лещенко Д.В. Морфологические особенности популяций мезенхимальных стромальных клеток человека в зависимости от свойств культурального пластика // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – N 2.

URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25869722>

4. **Белякова М.Б., Костюк Н.В., Егорова Е.Н. Феномен сохранения мультипотентности клетками жировой ткани после нескольких циклов адипогенной дифференцировки и дедифференцировки // Гены & клетки.** – 2017. – Т. XII. – N 3. – С. 42.

URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37096318>

Белякова М.Б., Костюк Н.В., Черноруцкий М.В., Миняев М.В., Лещенко Д.В., Калинкин М.Н. Перепрограммирование зрелых адипоцитов крыс под действием метаболических факторов // StemCellBio-2018: Фундаментальная наука как основа клеточных технологий: материалы Всерос. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 15-17 ноября 2018. – СПб, 2018. – С. 18.

Белякова М.Б., Панова А.В., Черноруцкий М.В., Костюк Н.В., Миняев М.В., Лещенко Д.В. Оценка роли контактного окружения как фактора дедифференцировки адипоцитов

URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42333776>

7. Костюк Н.В., Белякова М.Б., Миняев М.В., Лещенко Д.В., Егорова Е.Н., Петрова М.Б., Черноруцкий М.В., Панова А.В. Сравнение дифференцировки первичных адипоцитов и адипоцитов, полученных индукцией мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани // Технологии живых систем. – 2017. – Т. 14. – N 4. – С. 12-20.

8. Костюк Н.В., Белякова М.Б., Черноруцкий М.В., Панова А.В., Миняев М.В., Лещенко Д.В., Петрова М.Б. Морфологические особенности формирования коллагена в культуре клеток жировой ткани крыс // Морфология. – 2019. – Т. 156. – N 6. – С. 103.

Костюк Н.В., Белякова М.Б., Егорова Е.Н., Петрова М.Б. Способ совместного культивирования зрелых адипоцитов с адгезированными клетками крыс // Патент на изобретение RU № Бюл. № 7.

10. Миняев М.В., Белякова М.Б., Костюк Н.В., Лещенко Д.В. Градиентный термостабилизатор для жидкостного термостата // Патент на изобретение RU № 2729255. 2020. Бюл. № 22.

11. Мохов Е.М., Петрова М.Б., Сергеев А.Н., Серов Е.В. Влияние биологически активных швовых материалов на течение раневого процесса в коже: цитологическая характеристика // Фундаментальные исследования. – 2015. – N 1. – Ч. 10. – С. 2076-2079.

12. Мохов Е.М., Петрова М.Б., Сергеев А.Н., Серов Е.В. Экспериментально-гистологический анализ влияния биологически активных швовых материалов на течение раневого процесса в к

13. Панова А.В., Черноруцкий М.В. Влияние фитоэстрогенов на адипогенную дифференцировку клеток-предшественников // Сб. тез. V молодеж. конф. по молекулярной и клеточной биологии Института цитологии РАН, Санкт-Петербург, 18-21 сентября, 2016. СПб., 2016. – С. 51. URL: http://old.incras.ru/conf/young_abstracts_2016.pdf

14. Панова А.В., Белякова М.Б. Преимущества использования бычьей сыворотки в протоколах адипогенной дифференцировки МСК и дедифференцировки адипоцитов //

i

C

o

v

p

Г

- Панова А.В., Черноруцкий М.В., Костюк Н.В., Белякова М.Б. Оценка возможности использования эксплантов разных тканей для получения культуры хондробластов // Гены & клетки. – 2020. – Т. XV. – N 3. – Приложение. – С. 23.**
URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44248972>
- 86. Петрова М.Б., Н.В.Павлова, Е.А.Харитонова, В.Г.Шестакова. Цитологическая оценка влияния лазеротерапии на течение репарации кожи // Стоматология. – Том 89. – 2010. – N 1. – С.33-36.**
17. Петрова М.Б., Павлова Н.В., Червинац В.М., Овчинников М.М., Брянцева В.М., Харитонова Е.А., Шестакова В.Г. Оценка влияния геля L-цистеина нитрата серебра на репаративные процессы в коже и активность микробной флоры // Вестник ТвГУ. – Серия «Биология и экология». – 2010. – Вып. 17. – N 16.– С. 30-35.
18. Петрова М.Б., Пустовалова Р.А. Орнитоптер как показатель активности воспалительного этапа раневого процесса в коже // Биомедицинская химия. – 2011. – N 4. – С.461-468.
- Петрова М., Пустовалова Р., Харитонова Е., Павлова Н. Репаративный процесс в коже. Морфо-функциональные аспекты и реакция клеточного звена иммунитета. Saarbruken, Germany: [б.и.], Palmarium Academic Publishing, 2012. – 84 с. – Библиогр. : с. 67 - 81.
20. Петрова М.Б., Е.А.Харитонова, Н.В.Павлова, В.Г.Шестакова, Л.А.Курбатова Динамика гистологических изменений в регенерирующих структурах инфицированных ран кожи в условиях применения гиалуроновой кислоты // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8.– N 1. – С. 286-288.
21. Петрова М.Б., Павлова Н.В., Харитонова Е.А., Белякова М.Б., Костюк Н.В. Ультраструктура культивированных *in vitro* мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека // Морфология. – 2018. – Т. 153. – N 3. – С. 217.
- Петровская М.А., Курбатова Л.А., Белякова М.Б. Оценка качества кондиционированных сред разного происхождения кристалломорфологическим способом // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы III Всерос. образ.-науч. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием Иваново, 10–14 апреля 2017 г. /отв. ред. Томилова И.К. – Иваново : Изд-во Иван. гос. мед. акад, 2027. – Т.1. – С. 8-9.
23. Скачилова С.Я., Ермакова Г.А., Блинова Е.В., Блинов Д.С., Пахомов Д.В., Кильмяшкина М.Ф., Шимановский Д.Н., Петрова М.Б., Егорова Е.Н., Андрианова Е.В., Петровская М.А., Желтухин Н.К., Коротоножкин А.В. Мазь для лечения ожогов 1-3 степени // Патент на изобретение RU № 2731175. 2020 Бюл. № 25.
24. Хомулло Г.В., Довгилева О.М., Петрова М.Б. Регенерация тканей и хитозан. Тверь : Изд-во «Триада», 2013. – 132 с.
- Червинац В.М., Бондаренко В.М., Червинац Ю.В., Овчинников М.М., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Петрова М.Б., Харитонова Е.А., Брянцева В.М. Антибактериальная активность нано-структурированного серебряного геля // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011.– N 4. – С.88-92.
- Черноруцкий М.В., Волкова О.В., Калинкин М.Н., Белякова М.Б., Костюк Н.В., Миняев М.В. Влияние предварительной гормонотерапии дексаметазоном на остеогенную дифференцировку мультипотентных клеток жировой ткани кролика. // Гены & клетки. – 2019. – Т. XIV. – Приложение. – С. 254. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42334215>**
- Черноруцкий М.В., Панова А.В., Волкова О.В., Калинкин М.Н. Оценка вклада системных и клеточных механизмов в формирование тканевой адаптации к липидной нагрузке // Гены & клетки. – 2020. – Т. XV. – N 3. – Приложение. – С. 123-124.
- URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44249150>
28. Belyakova M.B., Chernorutskiy M.V., Kostiuik N.V., Miniaev M.V., Volkova O.V., Egorova E.N., Kalinkin M.N., Leshchenko D.V., Petrova M.B. The influence of some stress factors on the spontaneous differentiation in the MSCs cultures of rat adipose tissue // International Journal of

Тверской медицинский журнал. 2021 год. Выпуск №1.

Advanced Studies in Medicine and Biomedical Sciences. St. Louis, Missouri, USA. – 2019. –N 1. – 120 p. – P. 11-21. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38166398>