

Лекция 1

Актуальные вопросы разработки и применения клеточных технологий в практическом здравоохранении

Ярыгин Константин Никитич
д.б.н., член-корр. РАМН
зав. лаб. клеточной биологии
ФГБУ «ИБМХ» РАМН

По прогнозу Национальных институтов здоровья США ожидаемая средняя продолжительность жизни людей, родившихся в 2015 году и позже, в 2035 составит 130 лет, что будет достигнуто в основном за счет внедрения клеточных технологий, тканевой инженерии и других методов регенеративной медицины.

Некоторые актуальные аспекты создания и внедрения клеточных технологий в России

- Недофинансирование, связанное с незаинтересованностью бизнес-сообщества, которое, в свою очередь, объясняется в том числе отсутствием четкой правовой базы.
- Положительная динамика финансирования за счет федерального бюджета.
- Недостаточное качество и количество фундаментальных исследований, что частично объясняется необходимостью самофинансирования, что приводит к практическому использованию недостаточно проверенных методов.
- Отсутствие четких правил подачи заявок на регистрацию и лицензирование разработок, проведения доклинических исследований, клинических испытаний и т.п.

Специализированные журналы

- «Клеточные технологии в биологии и медицине». Главный редактор – академик РАМН В.Н.Ярыгин.
- «Клеточная трансплантология и тканевая инженерия». Главный редактор – проф. А.В.Берсенев.

Гранты, предоставляемые правительством РФ, позволяют проводить серьезные разработки в области клеточных технологий и тканевой инженерии.

Проблемы: необходимость софинансирования за счет собственных средств, невозможность тратить деньги на оборудование.

**В настоящее время, в РФ
отсутствуют нормативно-
правовое регулирование
применения клеточных
материалов и единые
стандарты их производства.**

Законы РФ, регулирующие производство и применение медицинских препаратов

- «Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан» (№ 5487-1 от 22.07.1993, ред. № 258-ФЗ от 29.12.2006);
- «О лекарственных средствах» (№ 86-ФЗ от 22.06.1998, ред. № 231-ФЗ от 18.12.2006);
- «О временном запрете на клонирование человека» (№ 54-ФЗ от 20.05.2002);
- «О донорстве крови и её компонентов» (№ 5142-1 от 09.06.1993, ред. № 176-ФЗ от 24.12.2002);
- «О трансплантации органов и (или) тканей человека» (№ 4180-1 от 22.12.1992, ред. № 15-ФЗ от 09.02.2007);

**В перечисленных законах
отсутствует понятие клеточных
технологий, что создаёт
возможность бесконтрольного
использования продуктов этих
технологий.**

**Поправки в указанные
законодательные акты должны
включить в сферу правового
регулирования все аспекты
обращения методов и продуктов
медицинских клеточных
технологий.**

Контрольно-разрешительная система (включая государственную регистрацию, контроль качества и надзор) в области производства и использования клеточных материалов также практически отсутствует и должна быть создана в кратчайшие сроки, учитывая актуальность проблемы.

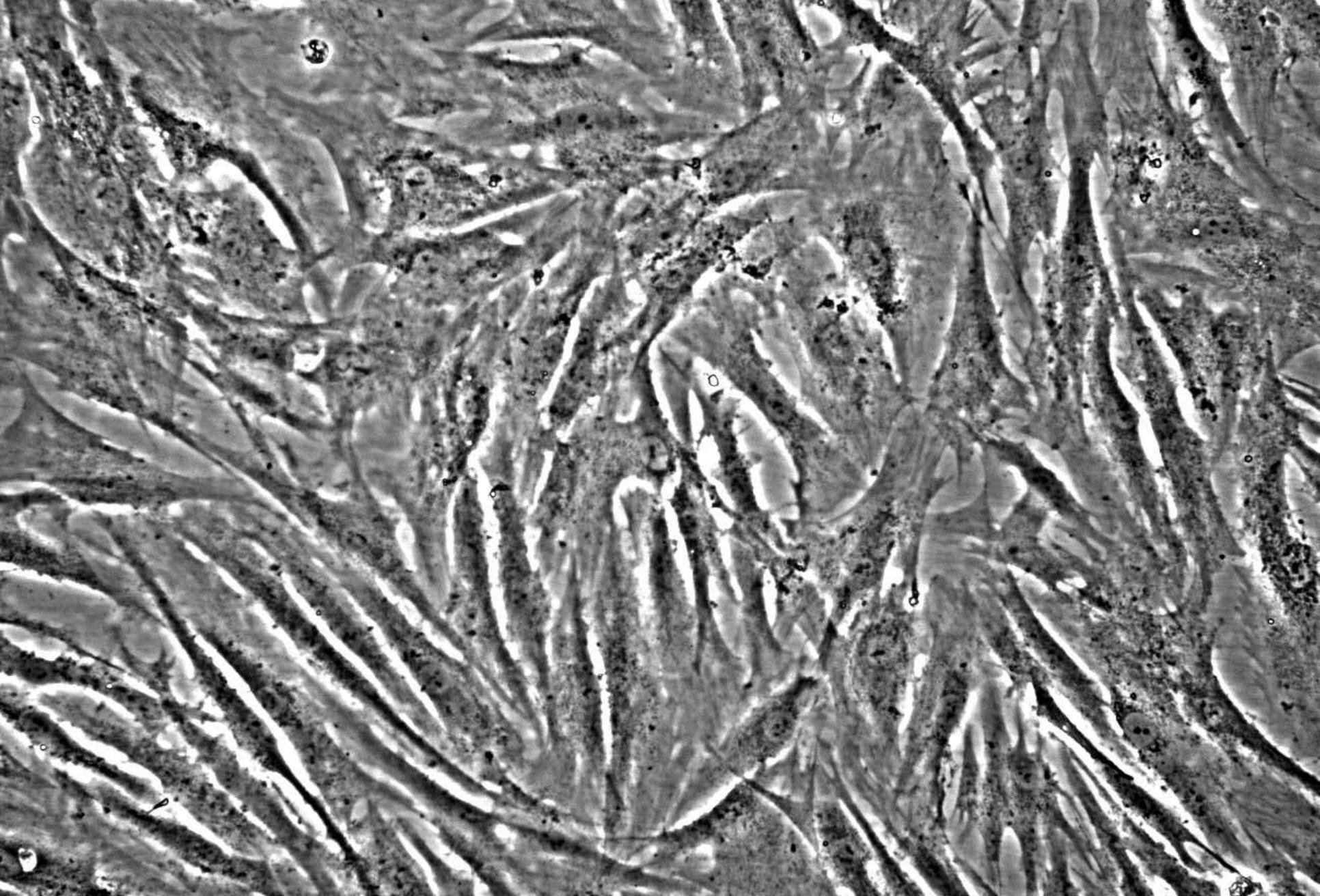
Что работает

- Экспертный Совет по применению средств, изделий и методов в медицинской практике, созданный приказом МЗ РФ №345 от 29.08.2001. Пункты 1 и 2 предусматривают экспертизу Советом нормативных документов перед их оформлением в виде приказов министерства. При Совете созданы специализированные комиссии, в том числе по клеточным технологиям (приказ №340 Минздравсоцразвития от 10.05.2005). Недостаток: Совет может только рекомендовать, прчем рекомендации Минздравсоцразвития может просто проигнорировать.
- Научно-координационный совет по отраслевой программе РАМН «Новые клеточные технологии – медицине».
- Постановление Правительства РФ №30 от 22.01.2007, которое позволяет заключить, что законодательство допускает осуществление работ (услуг) по применению клеточных технологий. Это уже нашло отражение в исправленном перечне медицинских услуг.
- Целевая программа правительства РФ «Национальная технологическая база» на 2007-2011 гг. включает раздел «Клеточные технологии».

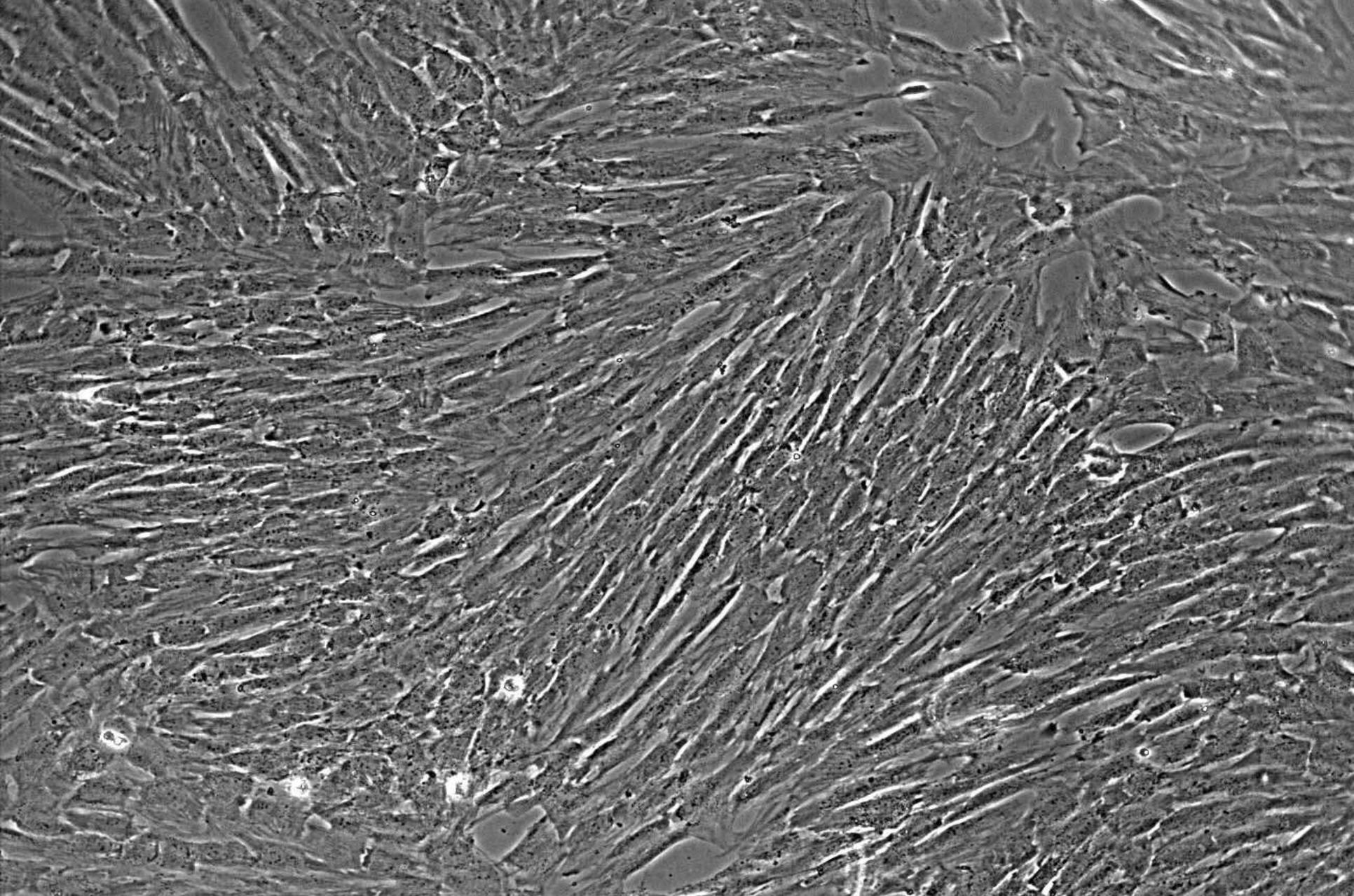
**Выделение и культивирование
клеток мезенхимального
происхождения из постнатальных
органов и тканей человека является
основой для получения клеточных
препаратов, используемых в
терапии патологий различного
генеза.**

Клеточные материалы мезенхимального происхождения:

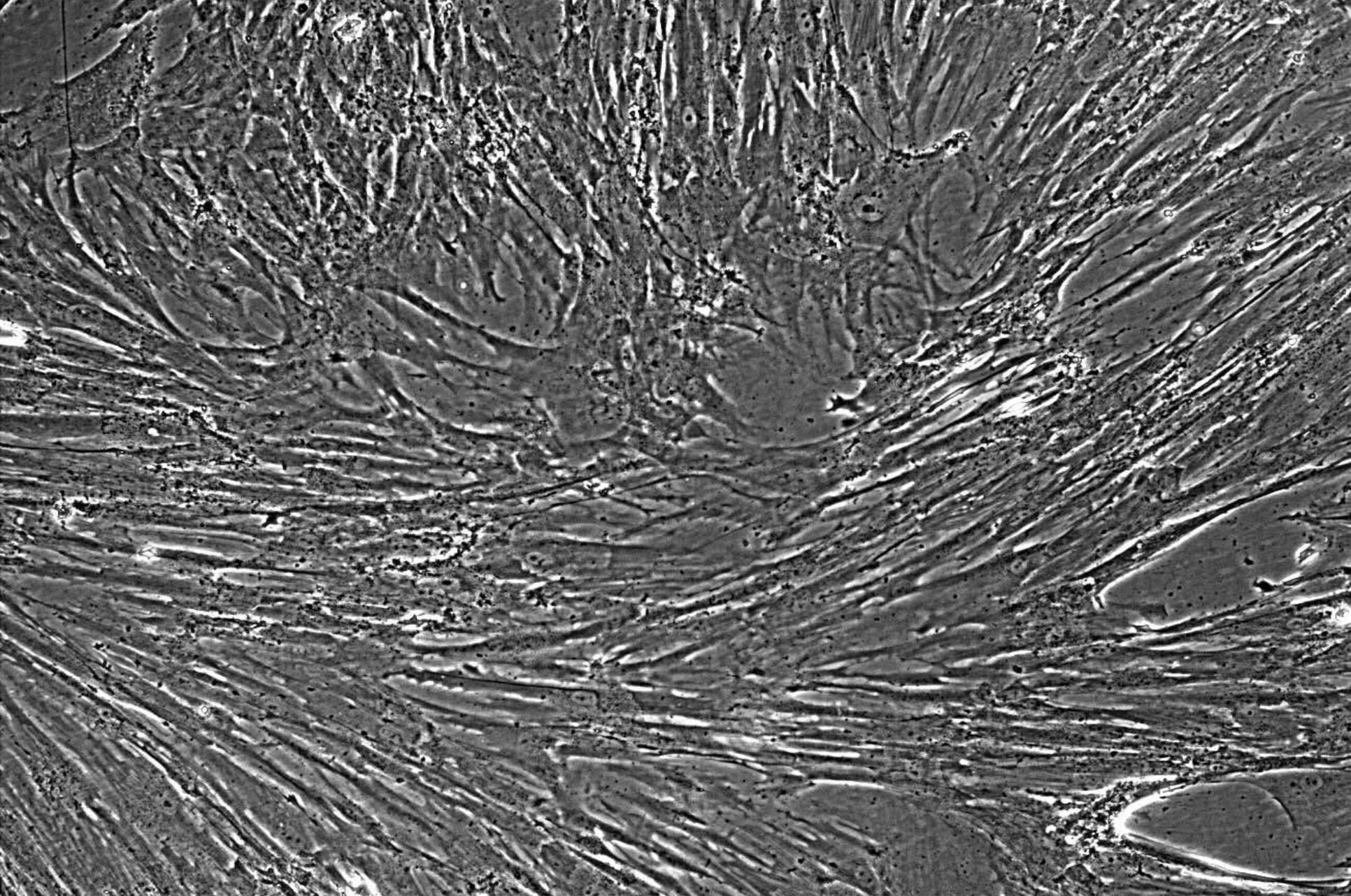
- ❖ фибробласты кожи;**
- ❖ мезенхимальные клетки из пуповины;**
- ❖ мезенхимальные клетки из плаценты;**
- ❖ мезенхимальные клетки из костного мозга.**



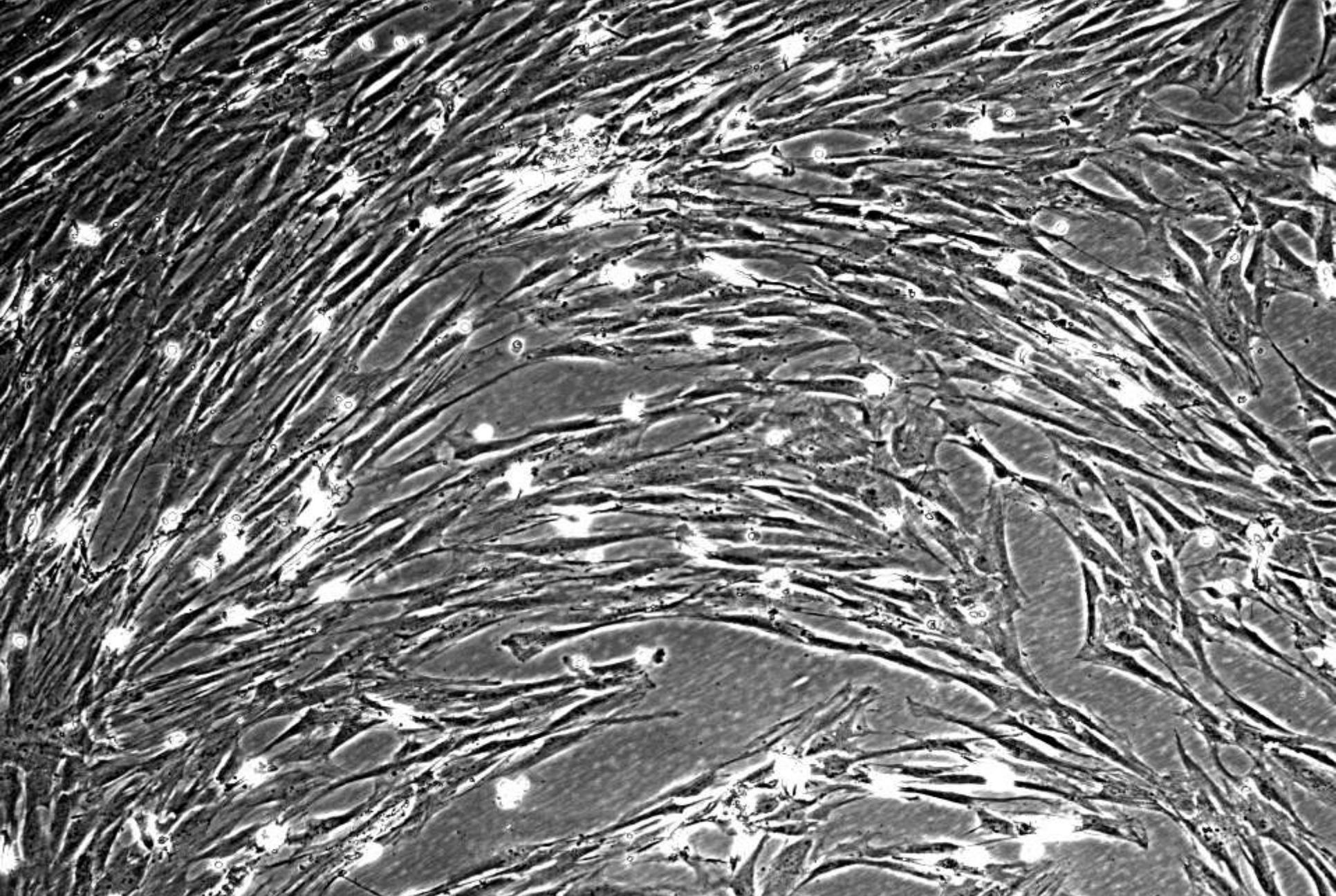
❖ фибробласты кожи.



❖ **мезенхимальные клетки из пуповины.**

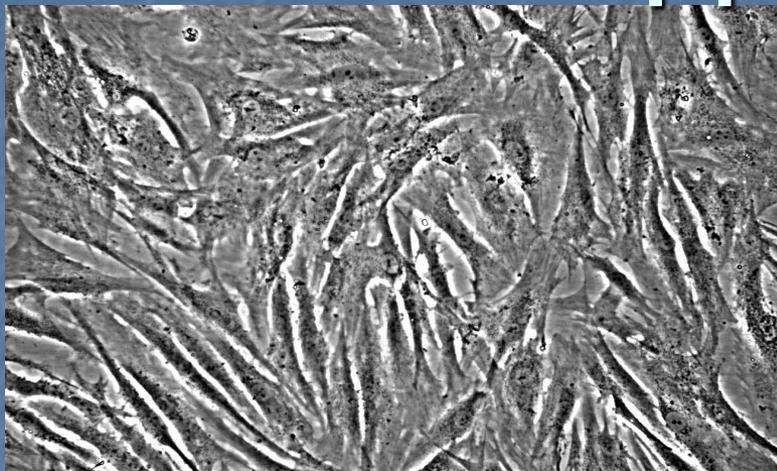


❖ **мезенхимальные клетки из плаценты.**

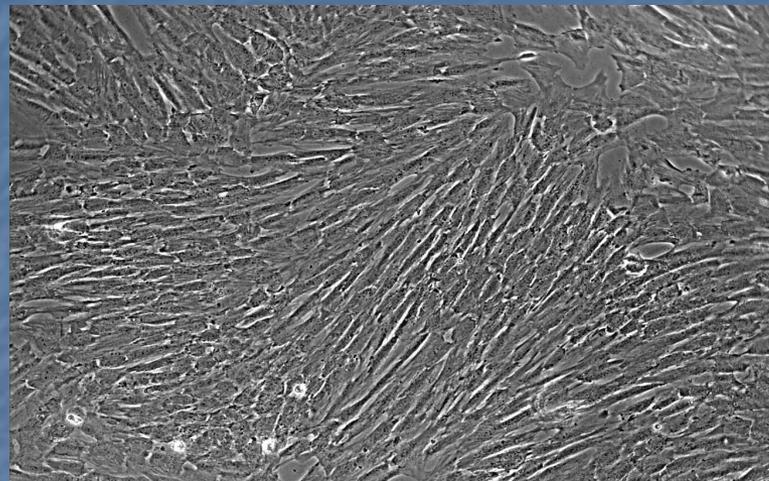


❖ **МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ИЗ КОСТНОГО МОЗГА.**

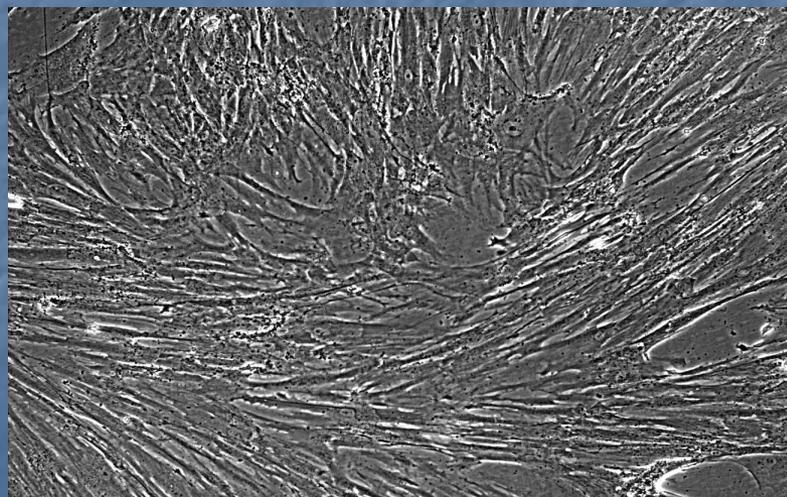
Все клеточные культуры мезенхимального ряда имеют сходную фибробластоподобную морфологию:



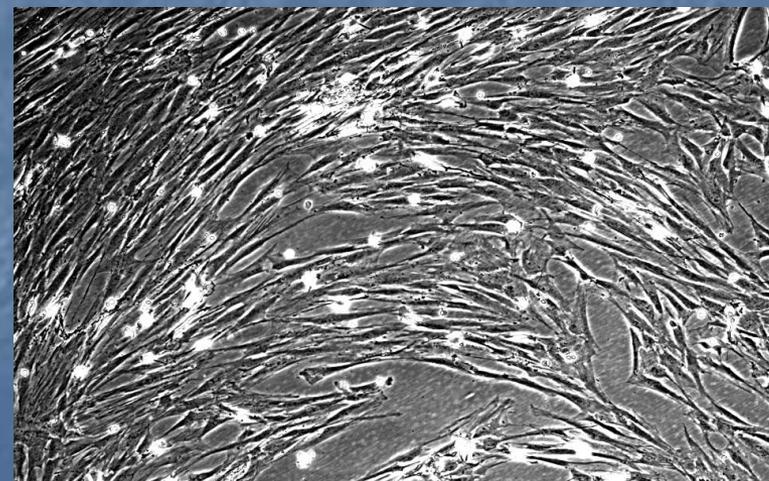
фибробласты кожи



МСК из пуповины



МСК из плаценты



МСК из костного мозга

Современные области применения клеточных материалов мезенхимального происхождения в терапии патологий:

**неврологические
заболевания**

**заболевания
сердца**

**фибробласты
кожи**

**мезенхимальные
клетки из
пуповины**

**мезенхимальные
клетки из
плаценты**

**мезенхимальные
клетки из
костного мозга**

диабетическая стопа

цирроз печени

Современные области применения клеточных материалов мезенхимального происхождения в эстетической медицине:

рубцы

алопеция

**фибробласты
кожи**

**мезенхимальные
клетки из
пуповины**

**мезенхимальные
клетки из
плаценты**

возрастные изменения кожи

стрии

**Внесение изменений, регулирующих
использование клеточных
медицинских технологий в
существующие законодательные и
ведомственные нормативные акты,
нуждается в анализе и обобщении
опыта, накопленного в этой области
отечественными специалистами.**

Получение клеточных материалов включает в себя ряд технологических процедур:

- ❖ выделение клеток из биопсийного материала;
- ❖ пассирование клеток *in vitro*;
- ❖ контроль жизнеспособности клеточных культур;
- ❖ скрининг на наличие инфекционных агентов;
- ❖ долговременная криоконсервация клеток;
- ❖ наращивание необходимого количества клеточного материала.

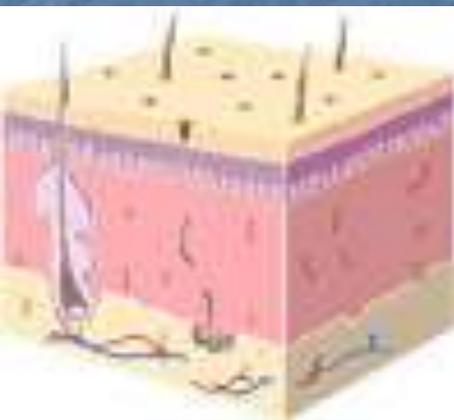
**Научное сообщество должно
принять единые стандарты
производства и применения
клеточных препаратов в биологии и
медицине, документально оформив
их в форме серии методических
пособий, рекомендаций и указаний.**

Многолетний опыт лаборатории медицинских клеточных технологий РГМУ по разработке подходов к стандартизации технологии производства клеточных материалов может служить основой для разработки нормативной базы, регламентирующей безопасное использование культур клеток в доклинических и клинических испытаниях.

Разработаны единые технологические стандарты для:

- получения и культивирования первичных клеточных культур из постнатальных органов и тканей человека;
- контроля качества и безопасности клеточных материалов;
- хранения клеточных материалов;
- транспортировки клеточных материалов;
- паспортизации клеточных материалов.

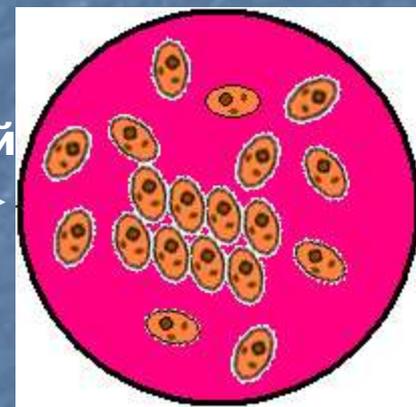
Методика получения клеточных культур мезенхимального происхождения



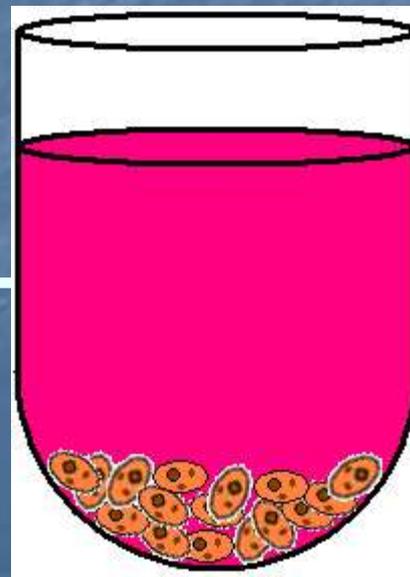
Механическое
измельчение



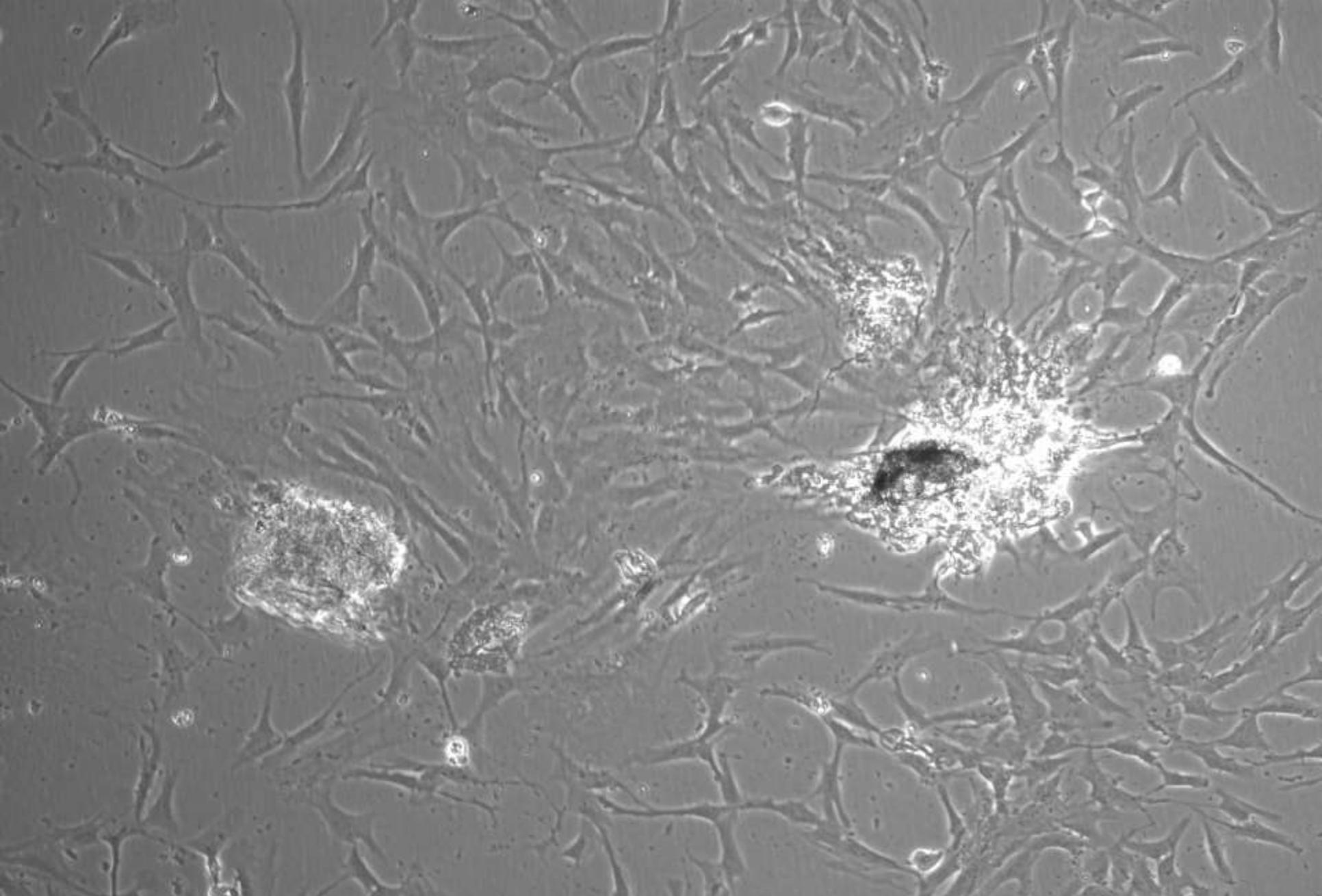
Обработка
коллагеназой



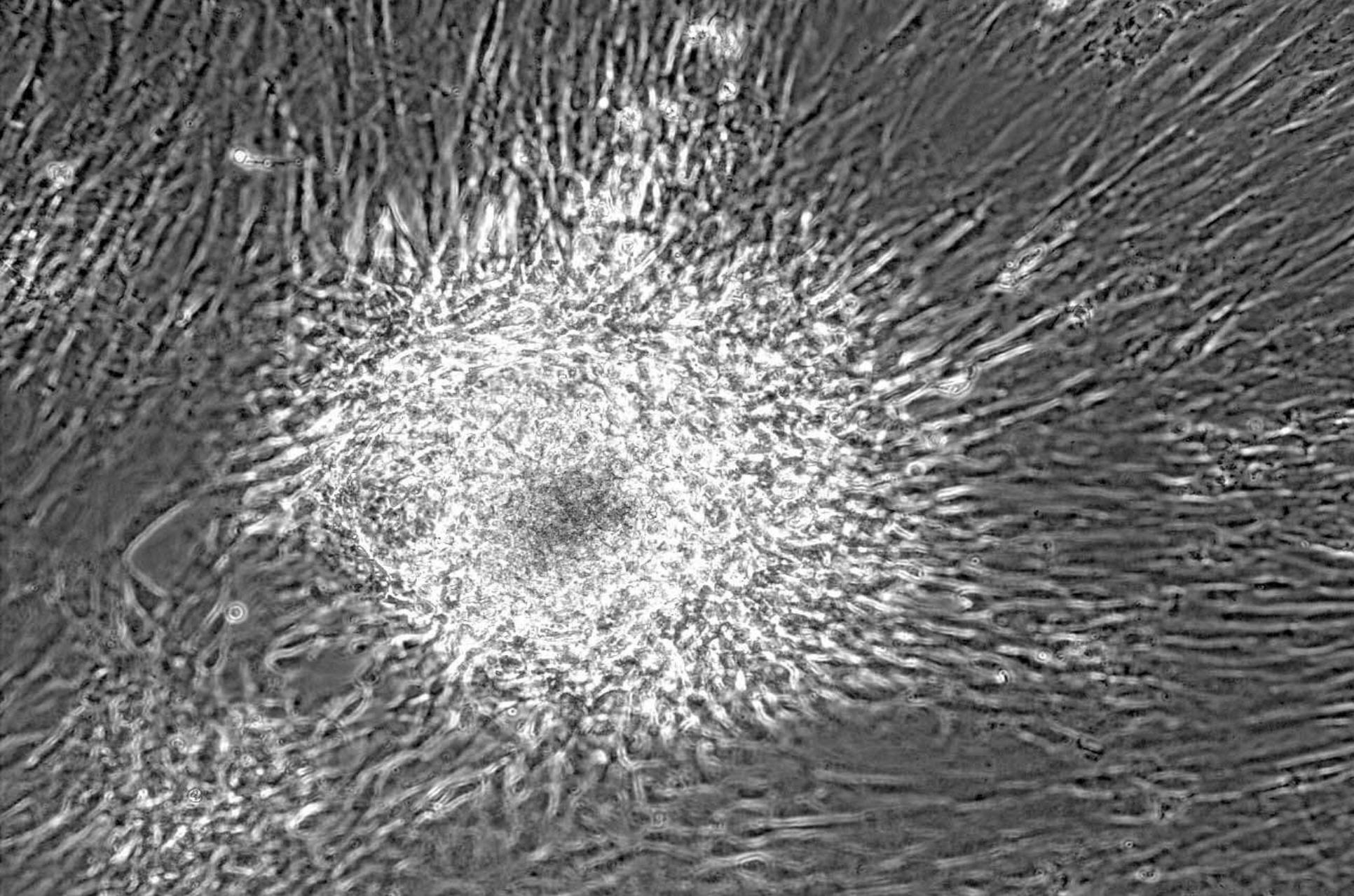
Перенос в
полную
ростовую
среду



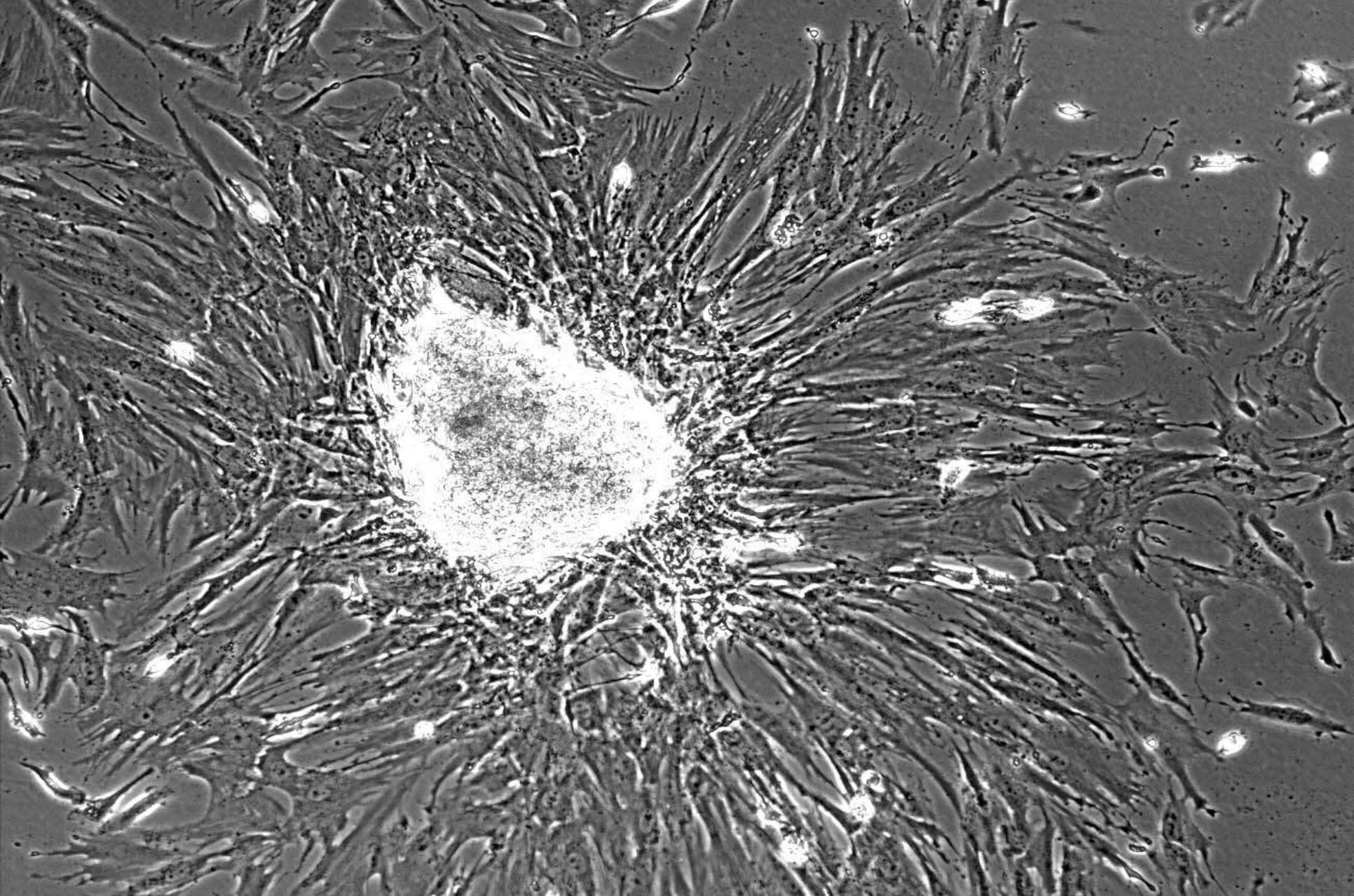
Центрифуги-
рование



❖ **Первичная культура фибробластов кожи.**



❖ **Первичная культура мезенхимальных клеток из пуповины.**



❖ **Первичная культура мезенхимальных клеток из плаценты.**

**Результаты стандартного обследования
на инфекционные агенты, общего для
всех типов клеточных материалов:**

HIV-1, HIV-2 отсутствуют;

HBV, HCV отсутствуют;

HSV-1, HSV-2, CMV, EBV отсутствуют;

Treponema pallidum, Mycoplasma, Toxoplasma
отсутствуют.

**Результаты обследования на инфекционные агенты,
специфического для данного типа клеточного
материала.**

Результаты стандартного обследования на инфекционные агенты, общего для всех типов клеточных материалов.

Результаты обследования на инфекционные агенты, специфичного для каждого типа клеточного материала:

Фибробласты кожи	Мезенхимальные клетки из пуповины и плаценты	Мезенхимальные клетки из костного мозга
HPV	HPV	—
	Ureaplasma	
	Chlamydia	

Паспортизация является
необходимой процедурой,
документирующей результаты
контроля состава, качества и
безопасности клеточного
материала.

Общая информация.

**Жизнеспособность клеток,
внешний вид образца.**

**Результаты стандартного обследования
на инфекционные агенты, общего для
всех типов клеточных материалов.**

**Результаты обследования на
инфекционные агенты, специфического
для данного типа клеточного материала.**

ПАСПОРТ КЛЕТОЧНОГО МАТЕРИАЛА

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ИЗ КОСТНОГО МОЗГА

ФИО пациента _____

Возраст _____

Наименование показателя	Норма по нормативно-технической документации	Результат испытаний
Содержание жизнеспособных клеток, %	Не менее 80 %	
Внешний вид	Суспензия клеток в желтоватой прозрачной жидкости	
pH	В диапазоне от 7.0 до 7.4	
Стерильность препарата в отношении бактерий	Бактерии в препарате отсутствуют	
Стерильность препарата в отношении микроскопических грибов	Микроскопические грибы в препарате отсутствуют	
Наличие в клетках ДНК вируса гепатита В	ДНК вируса гепатита В в клетках отсутствует	
Наличие в клетках РНК вируса гепатита С	РНК вируса гепатита С в клетках отсутствует	
Наличие в клетках провирусной ДНК вируса иммунодефицита человека 1-го типа	Провирусная ДНК вируса иммунодефицита человека 1-го типа в клетках отсутствует	
Наличие в клетках провирусной ДНК вируса иммунодефицита человека 2-го типа	Провирусная ДНК вируса иммунодефицита человека 2-го типа в клетках отсутствует	
Наличие в клетках ДНК вируса простого герпеса 1-го типа	ДНК вируса простого герпеса 1-го типа в клетках отсутствует	
Наличие в клетках ДНК вируса простого герпеса 2-го типа	ДНК вируса простого герпеса 2-го типа в клетках отсутствует	
Наличие в клетках ДНК цитомегаловируса	ДНК цитомегаловируса в клетках отсутствует	
Наличие в клетках ДНК токсоплазмы	ДНК токсоплазмы в клетках отсутствует	
Наличие в клетках ДНК микоплазмы	ДНК микоплазмы в клетках отсутствует	

Заключение

Клеточный материал (мезенхимальные клетки человека из костного мозга) _____ может быть использован в медицинских целях. Срок годности материала: 36 ч с момента выдачи при температуре хранения от + 2°C до + 8°C.

Клеточный материал выдан в объёме _____

Концентрация клеток _____

Дата и время выдачи препарата: _____

Отпускающий специалист

Рискифромма Елена

Дата

Печать учреждения

Параметры, оптимизированные для транспортировки

Разработаны составы сред для транспортировки, разрешенных к медицинскому применению, в которых клеточная культура может пережить определённое время и использоваться по назначению без каких-либо дополнительных манипуляций.

Параметры, оптимизированные для транспортировки

Подобран температурный режим
транспортировки и поддерживающие его
теплоизолирующие материалы.

Параметры, оптимизированные для транспортировки

Подобрана наиболее удобная для использования упаковка, сохраняющая исходную стерильность, жизнеспособность и концентрацию клеточного материала.

Проведенная работа по разработке подходов к стандартизации технологии производства клеточных материалов является предпосылкой для разработки нормативной базы, регламентирующей безопасное использование культур клеток в доклинических и клинических испытаниях.