

ОГЛАВЛЕНИЕ

Авторы и аффилиации	9
Предисловие	18
Список сокращений и условных обозначений	19
Правовое регулирование в регенеративной медицине	21
РАЗДЕЛ I. КЛЕТКИ И ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТКАНИ	
Глава 1. Культура клеток млекопитающих и человека	45
Контрольные вопросы	55
Тестовые задания	55
Глава 2. Стволовые клетки	57
2.1. Стволовые клетки взрослого организма	59
2.2. Эмбриональные стволовые клетки	63
2.3. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки	66
Контрольные вопросы	75
Тестовые задания	75
Глава 3. Самоорганизующиеся клеточные структуры	77
Контрольные вопросы	84
Тестовые задания	84
Глава 4. Внеклеточные везикулы	87
4.1. История открытия внеклеточных везикул	89
4.2. Классификация внеклеточных везикул, основные методы характеризации	91
4.3. Основные методы выделения внеклеточных везикул	95
Контрольные вопросы	98
Тестовые задания	98
Глава 5. Регулируемая клеточная гибель в процессе регенерации тканей	101
5.1. Апоптоз	102
5.2. Некроптоз, ферроптоз и пироптоз — регулируемые формы некроза	105
5.3. Иммуномодулирующая роль клеточной гибели в регенерации тканей	110
5.4. Терапевтические перспективы апоптоза стволовых клеток . . .	113
5.5. Апоптоз-индуцированные процессы при регенерации тканей	114
Контрольные вопросы	115
Тестовые задания	115

Глава 6. Крриоконсервация	117
6.1. Основные принципы крриоконсервации	117
6.2. Образцы крови	117
6.3. Образцы мочи	119
6.4. Образцы кала	119
6.5. Образцы тканей	119
Контрольные вопросы	120
Тестовые задания	120

РАЗДЕЛ II. БИОМАТЕРИАЛЫ

Глава 1. Основы дизайна биоматериалов	125
Контрольные вопросы	126
Тестовые задания	127
Глава 2. Природные материалы	129
2.1. Белки	129
2.2. Полисахариды и их производные	139
2.3. Полигидроксиалканоаты	146
Контрольные вопросы	147
Тестовые задания	147
Глава 3. Синтетические полимеры	149
3.1. Поликапролактон	150
3.2. Полилактид	153
3.3. Поли(молочная-со-гликолевая кислота)	155
3.4. Другие синтетические полимеры	157
Контрольные вопросы	158
Тестовые задания	159
Глава 4. Цитотоксичность и пирогенность	161
4.1. Понятие о цитотоксичности	161
4.2. История разработки и внедрения методов определения цитотоксичности в условиях <i>in vitro</i>	161
4.3. Анализ цитотоксичности с использованием тетразолиевых красителей	166
4.4. Определение цитотоксичности методом восстановления резазурина	167
4.5. Определение цитотоксичности по высвобождению лактатдегидрогеназы	169
4.6. Анализ жизнеспособности и цитотоксичности с помощью Live/Dead-окрашивания	170

4.7. Флуоресцентная микроскопия при Live/Dead-окрашивании . . .	171
4.8. Определение пирогенности	172
Контрольные вопросы	175
Тестовые задания	175
Глава 5. Биосовместимость и тканевый ответ	178
Контрольные вопросы	195
Тестовые задания	195

РАЗДЕЛ III. ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Глава 1. Основы рационального дизайна тканеинженерных конструктов	199
1.1. Каркасные технологии (scaffold-based technologies)	201
1.2. Бескаркасные технологии (scaffold-free technologies)	202
Контрольные вопросы	212
Тестовые задания	212
Глава 2. Скаффолдинг	215
2.1. Децеллюляризация	215
2.2. Инкапсулирование клеток	220
2.3. Лиофилизация	224
2.4. Электроформование	225
2.5. Формирование скаффолдов с помощью лазерных аддитивных технологий	230
Контрольные вопросы	233
Тестовые задания	233
Глава 3. Трехмерная биопечать	236
3.1. Экструзионная биопечать	237
3.2. Струйная биопечать	241
3.3. Лазерная биопечать	242
Контрольные вопросы	249
Тестовые задания	249

РАЗДЕЛ IV. МЕТОДЫ АНАЛИЗА В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Глава 1. Визуализация клеточных культур и тканеинженерных конструктов	253
1.1. Фазово-контрастная, флуоресцентная и электронная микроскопия	253

Контрольные вопросы	268
Тестовые задания	269
1.2. Нелинейная оптическая микроскопия	270
Контрольные вопросы	279
Тестовые задания	280
Глава 2. Оптическая спектроскопия	282
2.1. Спектроскопия диффузного отражения	284
2.2. Спектроскопия комбинационного рассеяния	287
2.3. Гиперспектральная визуализация	289
Контрольные вопросы	291
Тестовые задания	292
Глава 3. Атомно-силовая микроскопия	294
3.1. Контактный режим	296
3.2. Полуконтактный режим	298
3.3. Режим контроля пиковой силы	299
3.4. Режим снятия силовых кривых	300
3.5. Применение атомно-силового микроскопа в регенеративной медицине и тканевой инженерии	304
Контрольные вопросы	305
Тестовые задания	306
Глава 4. Статистический анализ	308
4.1. Типы данных	309
4.2. Описательная статистика	309
4.3. Мощность критериев и размер эффекта	313
4.4. Р-значение	315
4.5. Проверка распределения на нормальность	316
4.6. Параметрические критерии для сравнения двух и более выборок	317
4.7. Непараметрические критерии для сравнения двух и более выборок	320
4.8. Регрессии и корреляции	322
4.9. Анализ качественных данных	323
4.10. Анализ выживаемости	325
4.11. Графическое представление данных и стратегия статистического анализа	326
Контрольные вопросы	328
Тестовые задания	328

РАЗДЕЛ V. ВОЗМОЖНОСТИ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ ДЛЯ РЕШЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ЗАДАЧ

Глава 1. Реконструктивная пластическая хирургия	333
1.1. Материалы и технологии для реконструкции эпителиальной ткани.	335
1.2. Материалы и технологии для реконструкции костной ткани . . .	343
1.3. Материалы и технологии для реконструкции хрящевой ткани (хондропластика)	350
1.4. Материалы и технологии для реконструкции нервной ткани . . .	350
1.5. Материалы и технологии для реконструкции мышечной ткани	352
Контрольные вопросы	354
Тестовые задания	354
Глава 2. Локальная аутоплазмотерапия	357
2.1. Плазмолифтинг	359
2.2. Аутологичная плазма крови, обогащенная тромбоцитами . . .	361
2.3. Области применения плазмы крови, обогащенной тромбоцитами, и PRP-продуктов	372
2.4. Противопоказания и осложнения	378
Контрольные вопросы	380
Тестовые задания	380
Глава 3. Примеры использования возможностей регенеративной медицины в клинической практике	382
3.1. Травматология и ортопедия	382
Контрольные вопросы	389
Тестовые задания	390
3.2. Неврология.	391
Контрольные вопросы	395
Тестовые задания	396
3.3. Урология.	397
Контрольные вопросы	403
Тестовые задания	403
3.4. Оториноларингология	405
Контрольные вопросы	410
Тестовые задания	410
3.5. Кардиология	412
Контрольные вопросы	421
Тестовые задания	421

3.6. Гастроэнтерология	423
Контрольные вопросы	429
Тестовые задания	429
Глава 4. Эстетическая пластическая хирургия	431
4.1. Филлеры	432
4.2. Аутологичный жир	438
4.3. Мезенхимные стволовые/стромальные клетки	440
Контрольные вопросы	440
Тестовые задания	440
Ответы на тестовые задания	443
Предметный указатель	446

ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Разработка биомедицинских клеточных продуктов (БКМП) — одна из важнейших задач регенеративной медицины. В Российской Федерации основными нормативными документами в этой области являются:

- ▶ Федеральный закон от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах»;
- ▶ приказ Минздрава России от 20 октября 2017 г. № 842н «Об утверждении требований к организации и деятельности биобанков и правил хранения биологического материала, клеток для приготовления клеточных линий, клеточных линий, предназначенных для производства биомедицинских клеточных продуктов, биомедицинских клеточных продуктов».

Информированное согласие

Информированное согласие — основополагающий правовой и этический принцип в получении образцов и биомедицинских исследованиях. В его основе лежат базовые права независимости, свободы и достоинства. Оно представляет собой соглашение между донором и исследователем о предоставлении образцов и данных для исследований. Любое отступление от согласия донора требует разрешения надзорного совета, например ведомственного комитета по этике, локального этического комитета.

В основе информированного согласия лежит тот принцип, что доноры понимают суть запроса на сбор, хранение и использование их образцов и данных. Форма согласия должна быть простой, четкой и выраженной на понятном для донора языке.

Согласие должно быть добровольным, в нем указываются:

- ▶ цель исследования;
- ▶ возможные физические риски, связанные со сбором образца, и риски, связанные со сбором персональных данных;
- ▶ процедуры обеспечения конфиденциальности;
- ▶ методы защиты личности донора;
- ▶ последующее использование образцов и данных и доступ к ним;
- ▶ право отозвать согласие и потребовать уничтожения оставшихся образцов или их анонимизации;

- ▶ возможность совместного использования образцов и данных с другими учреждениями с вывозом их за границу или использованием на коммерческой основе;
- ▶ право на отказ в предоставлении образцов с разъяснением, что такой отказ не повлияет на лечение донора/пациента.

Необходимо также указать на возможность повторного обращения к донору для получения дополнительной информации, или большего объема информации, или дополнительного согласия.

Надо понимать, что повторное обращение к конкретным участникам для получения конкретного информированного согласия на каждый доступ исследователя к их образцам в рамках нового научного проекта невозможно. Помимо того, что это дорого и нецелесообразно, против таких запросов может возражать сам донор.

Виды информированного согласия

Существует несколько видов информированного согласия, определяемых уровнем разрешения, полученного от доноров, на использование их образцов.

- ▶ Специальное согласие устанавливает ограничения на использование образцов и данных в рамках конкретного проекта, детали которого доводятся до сведения донора. Оно используется, когда образцы и данные можно идентифицировать.
- ▶ Частично ограниченное согласие используется в рамках конкретного проекта, но допускает последующее неуточненное использование, прямо или косвенно связанное с исследованием.
- ▶ Общее согласие предполагает неуточненное использование образцов и данных в будущем, а донору предоставляются общие сведения о возможных последующих исследованиях, которые тем не менее должны соответствовать действующим национальным или местным нормам и правилам.
- ▶ Многоуровневое (или многоступенчатое) согласие разрешает донору согласиться на конкретные аспекты исследования, не соглашаясь на другие.

Специальное согласие рекомендуется получать в случае идентифицируемых образцов и данных, тогда как общее согласие можно использовать в случаях, когда образцы и данные анонимизированы и исследование проходит одобрение комитетом по этике или другим органом.

Вовлечение общественности перед запуском проекта, в котором используются образцы и данные, является несообразным методом информирования, консультирования и активного вовлечения соответствующих сообществ, проявляющих законный интерес к процессу исследования. Люди зачастую принимают решения, посоветовавшись с семьей, друзьями и членами сообщества.

Уязвимые категории испытуемых

Необходимо соблюдать меры предосторожности при использовании тканей уязвимых доноров, таких как психически недееспособные пациенты, например лиц под действием сильных седативных средств, людей с деменцией или нарушенным сознанием, а также детей.

В случае смерти донора согласие дается с учетом взглядов умершего или его семьи, если о них известно. Когда речь идет об участии в исследовании этнического меньшинства, отдельного сообщества или культурной группы, в процессе дачи согласия должен принимать участие представитель такой группы.

Соглашение о передаче материалов

Соглашение о передаче материалов — это договорной документ, которым регулируются условия использования образцов и данных в рамках исследования. Выдача образцов и данных должна осуществляться в соответствии с согласием донора.

Международное сотрудничество и экспорт образцов должны регулироваться разрешением на основании информированного согласия донора и местным законодательством, в котором необходимо указать, можно ли экспортировать образцы и какие разрешения необходимо получить.

В соглашении о передаче материалов должно быть указано следующее:

- ▶ цель передачи материала и его предполагаемое использование;
- ▶ ограничения на использование образцов (например, запрет на передачу третьим лицам и использование в коммерческих целях);
- ▶ ограничения на повторную идентификацию в случае предоставления деидентифицированных образцов;
- ▶ требования к обращению с источниками биологической опасности;
- ▶ процедуры утилизации или возврата неиспользованных образцов;
- ▶ права на объекты интеллектуальной собственности;
- ▶ меры выражения благодарности и права на публикации;

- ▶ выдача сводных или необработанных исследовательских данных;
- ▶ гарантии и отказы от требований;
- ▶ прочие факторы, которыми регулируется передача образцов, а также применимое законодательство и нормативные требования.

Особые меры по защите данных могут быть прописаны в том же соглашении о передаче материалов или в отдельном соглашении. В таком соглашении оговаривается последующее использование данных, включая возможность передачи другим лицам, требования к защите персональных данных и обеспечению конфиденциальности, контроль доступа к данным и защиты данных от несанкционированного доступа.

Большинство соглашений о передаче материалов имеют срок действия и должны содержать положения о том, как с окончанием этого срока поступят с образцами и данными: будут ли они возвращены или остатки будут уничтожены. В зависимости от порядка финансирования исследования или нормативных требований, действующих в отношении поставщика образцов, данные, полученные в результате использования образцов, могут потребовать разместить в централизованных базах данных открытого доступа для научного сообщества.

Идентификация образца

Идентифицирующая информация не выдается исследователям, за исключением случаев, когда условия проведения исследования прямо требуют ее выдачи и на это получено согласие донора или этического комитета. При использовании в исследовании идентифицируемых образцов необходимо поставить доноров в известность о возможных последствиях (например, о том, что к ним будут повторно обращаться исследователи или они будут получать обратную связь либо дополнительные запросы на доступ к медицинской карте).

Генетические данные

В исследованиях болезней генетические данные могут определяться как соматические или герминальные (то есть относящиеся к зародышевым клеткам).

Соматические изменения — это геномные аномалии, наблюдаемые только в пораженных клетках и обладающие потенциалом с точки зрения получения ценных диагностических, прогностических данных и данных о лечении.

Герминальные изменения — это варианты генов, которые увеличивают риск заболевания, связанный либо с наследственной предрасположенностью, либо с образом жизни и условиями окружающей среды.

На передачу герминальных данных требуется специальное согласие, поскольку они считаются конфиденциальным материалом, позволяющим установить личность, с последствиями не только для донора, но и для других членов его семьи.

Особое внимание необходимо обратить на защиту и выдачу таких данных. Решение о выдаче генетических данных научному сообществу в целом должен принимать специальный комитет по доступу к данным.

Эти данные должны оставаться в зоне интересов научных исследований, за исключением случаев, когда они утверждены клинически и дают основания для принятия мер клинического характера. Споры по вопросу выдачи генетических данных непосредственно пациентам или группам исследователей не прекращаются.

Список основных документов:

№	Наименование	Предмет правового регулирования
Федеральные законы		
1	Федеральный закон от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах»	Общие вопросы регулирования БКМП, экспертизы БКМП, проведения клинических исследований БКМП, производства БКМП
2	Федеральный закон от 5 августа 2000 г. № 117-ФЗ «Налоговый кодекс Российской Федерации (часть вторая)»	Размер государственной пошлины за совершение действий при осуществлении государственной регистрации БКМП
Постановления Правительства Российской Федерации		
1	Постановление Правительства Российской Федерации от 2 февраля 2017 г. № 124 «О внесении изменений в Положение о Министерстве здравоохранения Российской Федерации»	Полномочия Минздрава России в сфере БКМП

Продолжение таблицы

№	Наименование	Предмет правового регулирования
2	Постановление Правительства Российской Федерации от 4 февраля 2017 г. № 135 «Об установлении размеров оплаты услуг экспертов совета по этике, созданного в соответствии с Федеральным законом “О биомедицинских клеточных продуктах”»	Проведение клинических исследований БКМП
3	Постановление Правительства Российской Федерации от 14 июня 2017 г. № 706 «Об утверждении порядка уничтожения фальсифицированных биомедицинских клеточных продуктов, недоброкачественных биомедицинских клеточных продуктов и контрафактных биомедицинских клеточных продуктов»	Порядок уничтожения фальсифицированных БКМП
4	Постановление Правительства Российской Федерации от 25 августа 2017 г. № 1015 «Об утверждении Правил аккредитации медицинских организаций на право проведения клинических исследований биомедицинских клеточных продуктов»	Проведение клинических исследований БКМП
5	Постановление Правительства Российской Федерации от 31 августа 2017 г. № 1061 «Об утверждении Правил вывоза из Российской Федерации биомедицинских клеточных продуктов, предназначенных для гуманитарной помощи (содействия) или помощи при чрезвычайных ситуациях»	Оборот БКМП
6	Постановление Правительства Российской Федерации от 18 сентября 2017 г. № 1115 «Об утверждении Типовых правил обязательного страхования жизни и здоровья пациента, участвующего в клиническом исследовании биомедицинского клеточного продукта»	Проведение клинических исследований БКМП