

Persona

R. K. Chailakhyan and bone marrow stem cells: discovery, stages of study and application in clinicAlbina I. Kuralesova¹, Alla G. Grosheva², Yuri V. Gerasimov³, Elena N. Genkina⁴, Nataliya N. Vorobieva⁵✉¹⁻⁴N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of the Russian Federation, 18 Gamaleya St., Moscow 123098, Russian Federation;⁵Institute of Photon Technologies, Federal Scientific Research Centre "Crystallography and Photonics", Russian Academy of Sciences, 2 Pionerskaya St., Moscow 108840, Troitsk, Russian Federation¹alla.kuralesova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2935-1325>²alla-grosheva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0951-5380>³yugerasimov0521@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2517-3093>⁴Genkina.H@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7594-0473>⁵natalie.vorobieva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6698-1460>

Annotation. The article is dedicated to the 85th anniversary of Ruben Karpovich Chailakhyan, Doctor of Medical Sciences, Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Armenia, an outstanding scientist, who has been heading the laboratory of stromal regulation of immunity for more than 25 years at the Research Center of Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya. Thanks to the method of selective cloning of cells in monolayer cultures developed by Chailakhyan, stem stromal cells of the bone marrow were discovered. Number of cells has been determined, properties, differentiation and proliferative features have been studied. Reverse transplantation of monoclonal diploid strains into the body revealed a category of stem stromal progenitor cells responsible for organizing the hematopoietic and lymphoid microenvironment, providing the formation of hematopoietic and immune organs. These cells represent an independent cell line, histogenetically independent of hematopoietic stem cells. They are pluripotent and, when transplanted back into the body, provide the formation of bone, cartilage, reticular and adipose tissues. The resulting bone tissue is complete and suitable for repopulation by hematopoietic cells, which leads to the formation of a bone marrow organ. The reticular tissue of splenic fibroblasts provides the formation of a stroma that supports the differentiation of B cells to antibody-forming ones. The discovery of bone marrow stromal stem cells, data on their differentiation and proliferative potential formed the basis for the concept of hematopoietic microenvironment, which has international recognition. R. K. Chailakhyan is one of the authors of this concept. The research results are of fundamental importance in the development of cell technologies and tissue engineering for regenerative medicine. The created experimental model of restoring the integrity of bone tissue made it possible to introduce into the clinic a method for replacing bone defects by autotransplantation of osteogenic bone marrow cells grown outside the body. The method of restoring hyaline cartilage in chondropathy caused by trauma to the knee or large joints is based on the same biotechnological principle. Priority is given to data on the use of autologous bone marrow stromal stem cells tissue-engineered constructs that replace the rupture of the Achilles tendon and ensure complete regeneration of the tendon tissue. In order to optimize the terms of treatment and rehabilitation of patients, work is currently underway to find factors (laser exposure, EHF radiation, etc.) that stimulate the formation of the number of bone marrow cells required for autotransplantation, cultured outside the body.

Key words: bone marrow stromal stem cells, autotransplantation, monolayer cultures, monoclonal diploid strains, hematopoietic microenvironment, practical application.

For citation: Kuralesova A. I., Grosheva A. G., Gerasimov Yu. V., Genkina E. N., Vorobieva N. N. R. K. Chailakhyan and bone marrow stem cells: discovery, stages of study and application in the clinic. *Bulletin of Semashko National Research Institute of Public Health*. 2022;(4):143–147. (In Russ.). doi:10.25742/NRIIPH.2022.04.027.

Р. К. Чайлахян родился 19 ноября 1937 года в Ереване, там же окончил среднюю школу. Дальнейшее образование продолжил в г. Харькове, где в 1961 г. окончил медицинский институт. После нескольких лет работы врачом в 1964 г. поступил в аспирантуру НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР. Первым его руководителем была профессор М. А. Туманян, заведующая отделом радиационной иммунологии. Работая по предложенной руководством тематике, Р. К. Чайлахян выращивал в культуральных флаконах костный мозг крыс. Его внимание привлекли плотные дискретные скопления клеток — очаги, которые формировались при выращивании клеток костного мозга в определенных концентрациях. Результаты были неоднократно воспроизведены. По рекомендации руководителя Р. К. Чайлахян обратился за обсуждением полученных результатов к руководителю лаборатории иммуноморфологии этого же отдела, известному иммунологу д. м. н. А. Я. Фриденштейну. Встреча двух талантливых исследователей оказалась судьбоносной. Оценив большие возможности метода получения дискретных колоний, заинтересовавшись морфологией клеток, образующих колонии, А. Я. Фриденштейн предложил Р. К. Чайлахяну статью его

аспирантом. С тех пор вся научная деятельность Р. К. Чайлахяна была посвящена усовершенствованию методов культивирования стволовых стромальных клеток (МСК, мезенхимальные стволовые клетки — современный термин), определению их количества в органах кроветворения (костный мозг) и иммунитета (селезенка), изучению их свойств, дифференцировочных и пролиферативных особенностей. Результаты научных достижений последовательно представлены в кандидатской «Фибробластоподобные клетки в монослойных культурах кроветворной ткани» (1970 г.) и докторской «Дифференцировочные потенции стромальных фибробластов кроветворных и лимфоидных органов и их роль в формировании гемопоэтического и лимфоидного микроокружения» (1993 г.) диссертациях. Исследование этих клеток практически определило тематику лаборатории иммуноморфологии на последующие годы. Репринт обзорной статьи А. Я. Фриденштейна и известного гематолога И. Л. Черткова содержит на титульной странице посвящение, скрепленное подписями авторов: «Р. К. Чайлахяну — открывателю новых клеток».

С 1993 г. Р. К. Чайлахян руководит лабораторией стромальной регуляции иммунитета. Разработан-

ные им методы культивирования и исследования стволовых стромальных клеток весьма плодотворны, а значимость открытых Р. К. Чайлахяном клеток так велика, что за последующие 50 лет интерес к ним только возрастает. Количество лабораторий, работающих в данном направлении, растет не только в России, но и за рубежом. В течении последних десятилетий по данной тематике выходит 300—400 публикаций в год.

Использование стромальных клеток костного мозга в практическом здравоохранении предпринимается в двух направлениях: 1 — разработка теста на эффективность клонирования стволовых стромальных клеток при патологии в качестве диагностического теста, определяющего регенеративный потенциал клеток костного мозга («Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г. А. Илизарова» МЗ РФ, Государственный научный центр ФМБЦ им. А. И. Бурназяна в период борьбы за жизнь людей, пострадавших во время аварии на Чернобыльской АЭС; Институт радиологии г. Обнинск), 2 — ауто-трансплантация клеток костного мозга, культивированного вне организма, на место дефекта кости, хряща, сухожилия.

Впервые гипотезу о существовании стволовых клеток высказал более 100 лет назад выдающийся русский гистолог А. А. Максимов, изучавший быстро самообновляющуюся популяцию кроветворных клеток во взрослом организме. На съезде гематологов в Берлине в 1908 году А.А.Максимов впервые применил термин «стволовые клетки кроветворной ткани». По прошествии нескольких десятилетий появились научные статьи Р. К. Чайлахяна [1] и А. Я. Фриденштейна [2] с экспериментальными данными о том, что во взрослом организме действительно существуют стволовые клетки стромы костного мозга, выявляющиеся в культурах.

Логика исследований требовала получение прямых доказательств, что дискретные образования — колонии в монослойных культурах костного мозга являются клонами. Была выбрана модель — смешанные культуры клеток костного мозга самцов и самок морских свинок, использован современный и адекватный метод хромосомного анализа клеток в очагах этих культур. Маркерами служили: половые хромосомы XX и XY, определяющие принадлежность делящихся фибробластов только самцу или только самке. Выяснили, что каждая колония содержала клетки только одного типа. Вывод однозначный: каждая колония — это клеточный клон, формирующийся в результате деления одной колониеобразующей клетки. Аналогичные данные были получены в смешанных культурах клеток костного мозга у кроликов [3].

Концентрация колониеобразующих клеток в органах гемо — и лимфопоэза с возрастом или под воздействием определенных факторов может существенно варьировать. Принципиально важно было определить гистогенетическую принадлежность стромальных клеток, формирующих клоны фибробластов в монослойных культурах. Кариологиче-

ский анализ кроветворных и стромальных клеток проводился на гетеротопных трансплантатах костного мозга и костного мозга бедренных костей реципиента. Результаты исследования показали, что стромальные клетки-предшественники и их потомки, формирующие колонии фибробластов в культурах, не образуются за счет стволовых кроветворных клеток, а имеют иную гистогенетическую принадлежность [4—6].

Пассирование фибробластов костного мозга в монослойных культурах позволяет получить за 2—3 месяца клеточную массу в миллион раз превышающую число исходных колониеобразующих клеток. Это свидетельствует об их высоком пролиферативном потенциале.

Способность создавать специфическое гемопоэтическое или лимфоидное микроокружение является важным свойством стромальных стволовых клеток. Костномозговые фибробласты диплоидных моноклональных неоднократно пассированных штаммов при гетеротопной трансплантации формируют костномозговой орган, обеспечивающий одновременное развитие всех ростков гемопоэза. Селезеночные фибробласты чистых диплоидных штаммов, пересаженные гетеротопно под капсулу почки реципиенту, образуют полноценный селезеночный орган. Микроокружение такого органа в ответ на введение Т — зависимого антигена обеспечивает дифференцировку В-клеток до антителопродуцирующих [7]. В костном мозге есть общий предшественник костной, хрящевой и ретикулярной тканей, потомки которого в виде моноклональных штаммов, трансплантированных в диффузионные камеры (закрытая система), способны к остео — и хондрогенезу [8].

Открытые Р. Чайлахяном новые клетки по совокупности прямых доказательств являются стволовыми стромальными клетками, создающими кроветворное и лимфоидное микроокружение в органах гемо — и лимфопоэза. Полученные фундаментальные данные явились краеугольным камнем, на котором была создана А. Я. Фриденштейном и И.Л. Чертковым концепция кроветворного микроокружения, получившая мировое признание.

В настоящее время Р.К. Чайлахян продолжает исследовать популяцию стволовых стромальных клеток в более стрессовых ситуациях: действие факторов, таких как иммунизация, радиационное облучение, механическое повреждение, КВЧ излучение, низкоинтенсивное и тепловое лазерное воздействие. Данные исследования необходимы с точки зрения возможного увеличения численности стволовых стромальных клеток и стимуляции их пролиферативной активности с целью дальнейшего применения этих клеток в клинике. Практическое использование полученных данных — давняя мечта Рубена Карповича. Ее реализацию он начал еще в восьмидесятые годы [9] и активно продолжает до сих пор.

Научные результаты, полученные Р. К. Чайлахяном, позволили создать и внедрить в клинику метод замещения костных дефектов путем ауто-трансплан-



Декан факультета фундаментальной медицины МГУ академик РАН В. А. Ткачук (справа) вручает медаль А. А. Максимова д. м. н. Р. К. Чайлахяну.

тации остеогенных клеток костного мозга, выращенных вне организма (Патент на изобретение № 2167662). Процесс лечения включает: 1) забор костного мозга пациента, 2) культивирование стволовых стромальных клеток вне организма (1—1,5 мес.), 3) обратная трансплантация на специальном носителе в область костного дефекта. Образованная ремоделированная кость встраивается в структуру костного органа. Выраженный остеогенез отмечается через 1,5—2 месяца после проведения трансплантации [4].

Не менее актуальным является проблема восстановления целостности гиалинового хряща при травмах коленного и более крупных суставов. Метод восстановления гиалинового хряща суставов основан на предложенном Р. К. Чайлахяном биотехнологическом принципе — трансплантации в сустав аутологичных клеток-предшественников, выращенных вне организма (патент на изобретение № 2142285). В сустав с поврежденным хрящом трансплантировали стромальные клетки — предшественники, выделенные из костного мозга пациента и размноженные вне организма. Аутооттрансплантация этих клеток обеспечивает полное замещение дефекта истинно гиалиновым хрящом. Срок достижения положительного результата — 2—3 мес. после трансплантации и соответствующего лечения. Оба метода были удостоены золотой медали на международной выставке изобретений и открытий в Брюсселе (диплом: Брюссель 20/11/2000)[4].

Безусловно приоритетными являются последние данные об использовании аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в тканеинженерных конструкциях, замещающих разрыв ахиллова сухожилия и обеспечивающих полную регенерацию ткани сухожилия через 6 месяцев [10]. На сегодняшний день исследования в данных направлениях перспективны, могут быть активно востребованы и приобретают все большую значимость в медицинском и в социальном аспектах.

Р. К. Чайлахян организует совместные исследования не только с лабораториями Института, в ко-

тором работает более 50 лет, но и с научными и клиническими центрами РАН, с Институтом фотонных технологий РАН Федерального научно-исследовательского центра «Кристаллография и фотоника» РАН (Москва, Троицк), Отделениями пульмонологии ФМБА, Институтом биологии развития, кафедрой Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (кафедра оперативной хирургии и патологической анатомии, кафедра травматологии и ортопедии) и Институтом биохимии Национальной Академии наук Республики Армения по исследованию действия пролином богатого полипептида на пролиферацию МСК [11]. При этом постоянно и безотказно проводится большая консультационная работа. Р. К. Чайлахян — автор более 250 научных работ, опубликованных в отечественных и зарубежных изданиях. Он ведет большую научно организационную работу. Р. К. Чайлахян является членом Ученого и Диссертационного Советов ФГБУ НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, членом редколлегии журнала «Гены и клетки», членом правления научного общества «Регенеративная медицина». Он возглавляет Московское отделение межрегиональной ассоциации по клеточным технологиям и регенеративной медицине, а также является экспертом научных проектов РФФИ и РНФ. Р. К. Чайлахян награжден почетным знаком «Отличник здравоохранения» и медалью «Ветеран труда». На мемориальной сессии III Национального Конгресса по регенеративной медицине 15—18 ноября 2017 года ему была вручена памятная медаль № 01 члена-корреспондента Академии Наук, профессора А. А. Максимова и мантия ученого исследователя.

Рубен Карпович — достойный представитель знаменитой когорты Чайлахянов: его дядя М. Х. Чайлахян — академик РАН открыл гормоны роста растений, его кузен Л. М. Чайлахян — член-корреспондент РАН, будучи директором Института биофизики в г. Пущино, произвел на свет моноклональную мышку Машку раньше, чем появилась овечка Долли в Англии.

Р. К. Чайлахян — открыл новую категорию клеток — стволовые стромальные клетки костного мозга, впервые в мире получил клоны стромальных клеток костного мозга и моноклональные штаммы стромальных клеток, что позволило ему доказать способность этих клеток обеспечивать дифференцировку в направлении остеогенеза, хондрогенеза, ретикулярной и жировой тканей, что обуславливает широкое и успешное применение этих клеток в практике здравоохранения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Чайлахян Р. К., Лалыкина К. С. Спонтанная и индуцированная дифференцировка костной ткани в популяции фибробластоподобных клеток, полученных из длительных монослойных культур костного мозга и селезенки. ДАН СССР. 1969; 187 (2): 473—479.
2. Friedensteyn A. J., Chailakhyan R. K., Lalykina K. S. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell tissue kinet.* 1970; 3: 393—403.
3. Friedensteyn A. J., Ivanov-Smolenski A. A., Chajlakjan R. K., Gorskaya U. F., Kuralesova A. I., Latzinik N. V., Gerasimow U. V.

- Origin of bone marrow stromal mechanocytes in radiochimeras and heterotopic transplants. *Exp Hematol.* 1978 May; 6(5): 440—4.
4. Чайлахян Р. К., Герасимов Ю. В. Стволовые стромальные клетки костного мозга: экспериментальные исследования и применение. Медицинская иммунология. 2004; 6(3—5): 201—205.
 5. Фриденштейн А. Я., Лациник Н. В., Куралесова А. И., Чайлахян Р. К. и др. Клетки — переносчики кроветворного микроокружения. Итоги науки и техники: Серия «Иммунология». 1983; 12: 5—28.
 6. Иванов-Смоленский А. А., Чайлахян Р. К., Герасимов Ю. В., Куралесова А. И. и др. Происхождение стромальных механоцитов костного мозга по данным их типирования по антигенам и хромосомным маркерам. Онтогенез. 1978; 9 (13): 245—252.
 7. Friedenstein A. J., Chajlakjan R. K., Latsinik N. V., Panasyuk A. F., Keiliss-Borok I. V. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues: cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation.* 1974; 17(4): 331—340. doi: 10.1097/00007890-197404000-00001.
 8. Friedenstein A. J., Chajlakjan R. K., Gerasimov U. V. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Prolif.* 1987; 20(3): 263—272. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1987.tb01309.x>
 9. Осемян И. А., Чайлахян Р. К., Гарибян Э. С. и др. Лечение нероснувшихся переломов ложных суставов и дефектов длинных костей трансплантацией аутологичных костномозговых фибробластов, выращенных in vitro и имплантированных в АГМ. Ортопедия, травматология и протезирование. 1987; 9: 59—61.
 10. Chailakhyan, R.K., Kon, E., Shekhter, A.B. et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells provide complete regeneration in a rabbit model of the Achilles tendon bundle rupture. *International Orthopaedics (SICOT)*; 45, 3263—3276 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00264-021-05168-1>.
 11. Chailakhyan R. K., Gerasimov Yu. V., Chailakhyan M. R., Galoyan Armen A. Proline-rich hypothalamic polypeptide has opposite effects on the proliferation of human normal bone marrow stromal cells and human giant-cell tumour stromal cells. *Neurochem Res.* 2010. Jun; 35(6): 934—939. doi: 10.1007/s11064-009-0113-7. Epub 2010 Jan 20.
 2. Friedenstein, A. J., Chailakhyan R. K., Lalykina K. S. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell tissue kinet.* 1970; 3: 393—403.
 3. Friedenstein A. J., Ivanov-Smolenski A. A., Chajlakjan R. K., Gorskaya U. F., Kuralesova A. I., Latsinik N. V., Gerasimov U. V. Origin of bone marrow stromal mechanocytes in radiochimeras and heterotopic transplants. *Exp Hematol.* 1978 May; 6(5): 440—4.
 4. Chailakhyan R. K., Gerasimov Yu. V. Bone Marrow stem stromal cells: experimental research and application. *Medical Immunology. [Medicinskaya Immunologija]*. 2004; 6(3—5): 201—205. (in Russian)
 5. Friedenstein, A J, Latsinik N. V., Kuralesova A. I., et al. Cells- carriers of the hematopoietic microenvironment. *Results of science and technology: series Immunology. [Itogi nauki i tekhniki: seriya Immunologiya]*. 1983; 12: 5—28. (in Russian).
 6. Ivanov-Smolenski A. A., Chailakhyan R. K., Gerasimov Yu. V., Gorskaya U. F., Kuralesova A. I. Origin of stromal bone marrow mechanocytes according to the results of typing them by isoantigens and chromosomal markers. *Ontogenesis. [Ontogenez]*. 1978; 9(3): 245—252. (in Russian).
 7. Friedenstein A. J., Chajlakjan R. K., Latsinik N. V., Panasyuk A. F., Keiliss-Borok I. V. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues: cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation.* 1974; 17(4): 331—340. doi: 10.1097/00007890-197404000-00001
 8. Friedenstein A. J., Chajlakjan R. K., Gerasimov U. V. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Proliferation.* 1987; 20(3): 263—272. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1987.tb01309.x>
 9. Osepyan I. A., Chailakhyan R. K., Gharibyan E.S, et al. Treatment of nonunion fractures of the false joints and defects of long bones by transplantation of autologous bone marrow fibroblasts grown in vitro and implanted in AGM. *Orthopedics, traumatology and prosthetics. [Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye]*. 1987; 9: 59—61. (in Russian).
 10. Chailakhyan, R.K., Kon, E., Shekhter, A.B. et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells provide complete regeneration in a rabbit model of the Achilles tendon bundle rupture. *International Orthopaedics (SICOT)*. 2021; 45; 3263—3276. <https://doi.org/10.1007/s00264-021-05168-1>.
 11. R K Chailakhyan R. K., Gerasimov Yu. V., Chailakhyan M. R., Galoyan Armen A. Proline-rich hypothalamic polypeptide has opposite effects on the proliferation of human normal bone marrow stromal cells and human giant-cell tumour stromal cells. *Neurochem Res.* 2010 Jun;35(6):934—9. doi: 10.1007/s11064-009-0113-7. Epub 2010 Jan 20.

REFERENCES

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article. The authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 30.06.2022; одобрена после рецензирования 03.08.2022; принята к публикации 01.09.2022. The article was submitted 30.06.2022; approved after reviewing 03.08.2022; accepted for publication 01.09.2022.