

КСЕНОГЕННЫЕ РИСКИ В ПРИМЕНЕНИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

© С. В. Анисимов

*Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова
Минздравооразвития РФ, Санкт-Петербург;
электронный адрес: askold5@front.ru*

Стволовые клетки могут быть использованы в качестве субстрата заместительной и восстановительной клеточной терапии широкого спектра заболеваний, в том числе считавшихся ранее неизлечимыми. Кроме того, изучение фундаментальных механизмов, лежащих в основе пролиферации и дифференцировки стволовых и прогениторных клеток, имеет огромное значение для раскрытия принципов роста, развития, адаптации, регенерации и их нарушения на фоне патологических состояний. Однако многие этапы работы со стволовыми клетками, в том числе их выделение, экспансия и направленная дифференцировка *in vitro*, связаны с воздействием факторов ксеногенного происхождения. Экспозиция клеток человека к действию ксеногенных факторов на различных этапах работы может затруднить интерпретацию результатов исследований протеома, генома, транскриптома, метаболома клеток, а также ассоциирована с риском развития у реципиентов трансплантации клеточного материала иммунного ответа и ксенозоонозов. В обзоре рассматриваются ключевые аспекты действия ксеногенных факторов на этапах работы со стволовыми клетками, а также возможные пути снижения уровня ксеногенных рисков.

Ключевые слова: стволовые клетки, культивирование *in vitro*, ксеногенные факторы, ксеногенные риски, ксенозоонозы.

Принятые обозначения: чЭСК — эмбриональные стволовые клетки человека, МСК — мезенхимные стволовые клетки, ВКМ — внутренняя клеточная масса.

Стволовые клетки являются основой роста и развития эмбриона, процессов обновления, адаптации и регенерации органов и тканей взрослого организма. Достигнутый в течение последних десятилетий прогресс в области клеточных технологий позволяет расценивать стволовые клетки как фактор, способный радикально воздействовать на медицину в целом: аналогично внедрению массовой вакцинации в XVII—XVIII вв., принципов асептики, антисептики и анестезии в XIX в. и антибиотиков в XX в. (Никольский и др., 2007; Park et al., 2008). Более того, выделение эмбриональных стволовых клеток человека в 1998 г. оценивается как одно из важнейших событий в современной биологии наряду с открытием структуры ДНК (1953 г.) и первым прочтением генома человека (2001 г.). Стволовые клетки могут быть использованы в качестве субстрата заместительной и восстановительной клеточной терапии широкого спектра заболеваний, в том числе считавшихся ранее неизлечимыми. В течение уже длительного времени стволовые клетки костного мозга с успехом применяются в терапии многих онкогематологических заболеваний, в том числе лейкозов, лимфом, патологии плазматических клеток крови, а также наследственных и приобретенных заболеваний костного мозга и аутоиммунных заболеваний. Более того, в настоящее время проводится активная работа по широкому внедрению в клиническую практику подходов, основанных на применении стволовых клеток в лечении солидных опухолей, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и иных забо-

леваний, травм и ожогов и т. д. (Menendez et al., 2006; Анисимов, 2009а, 2009б; Chagastelles et al., 2010). Наконец, изучение фундаментальных принципов, лежащих в основе пролиферации и дифференцировки стволовых и прогениторных клеток, имеет огромное значение для раскрытия механизмов роста, развития, адаптации, регенерации и их нарушения на фоне патологических состояний (Anisimov et al., 2007). Подобная информация необходима для разработки новых методов диагностики, прогнозтики, мониторинга и лечения многих заболеваний. Однако многие этапы работы со стволовыми клетками, в том числе этапы их выделения, экспансии и направленной дифференцировки *in vitro*, связаны с воздействием разнообразных факторов ксеногенного происхождения. Экспозиция клеток человека к действию ксеногенных факторов на различных этапах работы приводит к контаминации материала, что может затруднить интерпретацию результатов исследований протеома, генома, транскриптома и метаболома клеток человека. Кроме того, существует риск развития у реципиентов трансплантации клеточного материала иммунного ответа на факторы ксеногенного происхождения, а также ксенозоонозов — заболеваний, передающихся от животных человеку в ходе ксенотрансплантации. Возможным вариантом механизма развития ксенозоонозов является контаминация человеческого клеточного материала (субстрата трансплантации) клетками животного происхождения, в том числе клетками, используемыми на этапах экспансии и направленной диф-

ференцировки стволовых клеток *in vitro*. Учитывая высокую степень риска, связанную с развитием зоонозов (в том числе риска глобального характера), значимость этого фактора нельзя недооценивать.

Ксеногенные риски

Аллогенная трансплантация клеточного материала связана с риском заражения реципиента трансмиссивными инфекциями, в том числе вирусными инфекциями (вызываемыми вирусами HIV-1 и -2, HHV-8, HSV, VZV, HBV, HCV, CMV, EBV, HTLV-1 и -2, B19 и WNV), бактериальными инфекциями (бруцеллез и сифилис), паразитарными инфекциями (малярия, токсоплазмоз, трипаносомоз, лейшманиоз, бабезиоз (пироплазмоз)), грибковыми инфекциями (кандидозы и аспергиллезы). В отдельных случаях развитие инфекционных осложнений клеточной терапии связано с контаминацией материала на этапе забора, обработки, хранения и введения. Редкими вариантами заболеваний, возникающих вследствие трансплантации органов и тканей или клеточной терапии, являются генетически обусловленные энзимопатии, гемоглобинопатии и такие аутоиммунные заболевания, как генерализованная миастения, атопический дерматит, саркоидоз, целиакия, аутоиммунная тромбоцитопения и др. Кроме того, существует риск развития лейкозов донорского происхождения (Anisimov et al., 2010).

Заболевания, способные в обычных условиях передаваться от животных человеку, известны как зоонозы (от греч. *zoion* — животное и *posos* — болезнь). Известны бактериальные, вирусные, паразитарные и микотические (грибковые) зоонозы, весьма различающиеся по целому ряду показателей, в первую очередь по распространенности и эпидемиологическим характеристикам. Совместный Центр по ветеринарным исследованиям и обучению ВОЗ (WHO Centre for Veterinary Research) выделяет до 146 зоонозов. В частности, к ним относят и ряд особо опасных инфекций, таких как чума и сибирская язва. Хотя зоонозы известны тысячи лет (к примеру, эхинококкоз был описан еще Гиппократом), понятие «ксенозооноза» (хено — чужой, чуждый) является сравнительно новым в медицине. Под ксенозоонозом в настоящее время понимают заболевание, возникающее в результате пересадки органа животного человеку (ксенотрансплантации). Ксенотрансплантация (также гетеротрансплантация) находит ограниченное, но реальное применение в отдельных направлениях трансплантологии. В частности, для склеропластики при прогрессирующей миопии используется перикард крупного рогатого скота, в восстановительной стоматологии — костный материал. Удачным оказался опыт применения соединительной ткани свиного кишечника в операции по восстановлению связочного аппарата (пластики связки коленного сустава); широкую известность получили попытки использования свиных тканей в кардиохирургии. Описаны случаи применения в трансплантологии тканей обезьян, в частности печени бабуина (Michaels, 1997, 1998; Hammer, 2001).

На фоне острой потребности трансплантологии в биологических материалах несомненные успехи в задействованных областях медицины (хирургия и иммунология) позволяют надеяться на более широкое внедрение ксено-трансплантации в клиническую практику. Однако сам принцип метода требует учета этических аспектов и связан с определенными рисками, важнейшими из которых

являются именно риски развития ксенозоонозов, особенно опасными из которых считаются вирусные инфекции. Теоретически, встроенные в нуклеиновые кислоты клеток гены вирусов болезней животных, оказавшись в человеческом организме, могут иметь возможность инфицировать клетки уже человека. При этом существует некоторая вероятность того, что попавшие в человеческий организм внутри живых клеток ксенотрансплантата вирусы даже видоспецифических вирусных заболеваний животных, т. е. неззоонозов, смогут мутировать, адаптируясь к организму человека. Это может привести к развитию нового для людей заболевания, которое, возможно, сможет передаваться от человека к человеку. Именно на описанном выше механизме основана одна из теорий появления в XX в. синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) (McKenzie et al., 1999; Sparrow, 2009). Существование СПИД (вызываемого вирусами иммунодефицита животных) известно среди африканских приматов и кошачьих; существует вероятность того, что в результате мутации вирус (возможно, вирус иммунодефицита африканских обезьян, SIV) сумел эволюционировать, приспособившись к существованию в организме человека.

Следует особо отметить, что одним из подходов, направленных на повышение эффективности трансплантации чужеродных клеток и тканей, является их генетическая модификация с интеграцией в геном животных клеток генов человека. Смысл создания подобных химерных клеток может заключаться, например, в улучшении их приживляемости в организме реципиента, либо в усилении продукции секреторируемых клетками субстанций, либо ускорении дифференцировки последних в определенном направлении. Именно эти причины являются движущей силой экспериментов по созданию трансгенных животных-доноров, в частности свиней. Подобные работы производятся несколькими исследовательскими группами в Японии, Китае и Великобритании с середины 90-х годов XX в., при этом исследования концентрируются в области улучшения приживаемости ксенотрансплантатов за счет введения человеческих генов-регуляторов факторов комплемента в геном составляющих их клеток. Так, если первая опубликованная работа в этой области сообщала о создании трансгенных свиней, экспрессирующих ген человеческого фактора ускорения распада (hDAF; Langford et al., 1994), то одна из позднейших работ описывала уже потенциальных животных-доноров, клетки которых несут сразу три человеческих гена — hDAF, протектин (hCD59) и мембранный кофакторный белок hMCP (Zhou et al., 2005). Можно оговориться, что в настоящее время соблюдается мораторий в отношении человека как реципиента химерного клеточного материала, и ксенотрансплантационные эксперименты с использованием тканей и клеток трансгенных доноров производятся исключительно на животных (например, пересадка осуществляется от свиней к обезьянам). В некоторых странах такой подход закреплен и законодательно, хотя законы многих стран в этом отношении являются весьма незрелыми. Так, в то время как в США разрешены экспериментальные клинические исследования с пересадкой людям ксенотрансплантатов, полученных и от свиней, и от приматов, то в Великобритании — только от свиней.

Риск развития ксенозоонозов при трансплантации стволовых клеток может быть основан на нескольких механизмах. Клеточный материал человеческого происхождения (стволовые клетки или их производные) может быть контаминирован клетками животного происхожде-

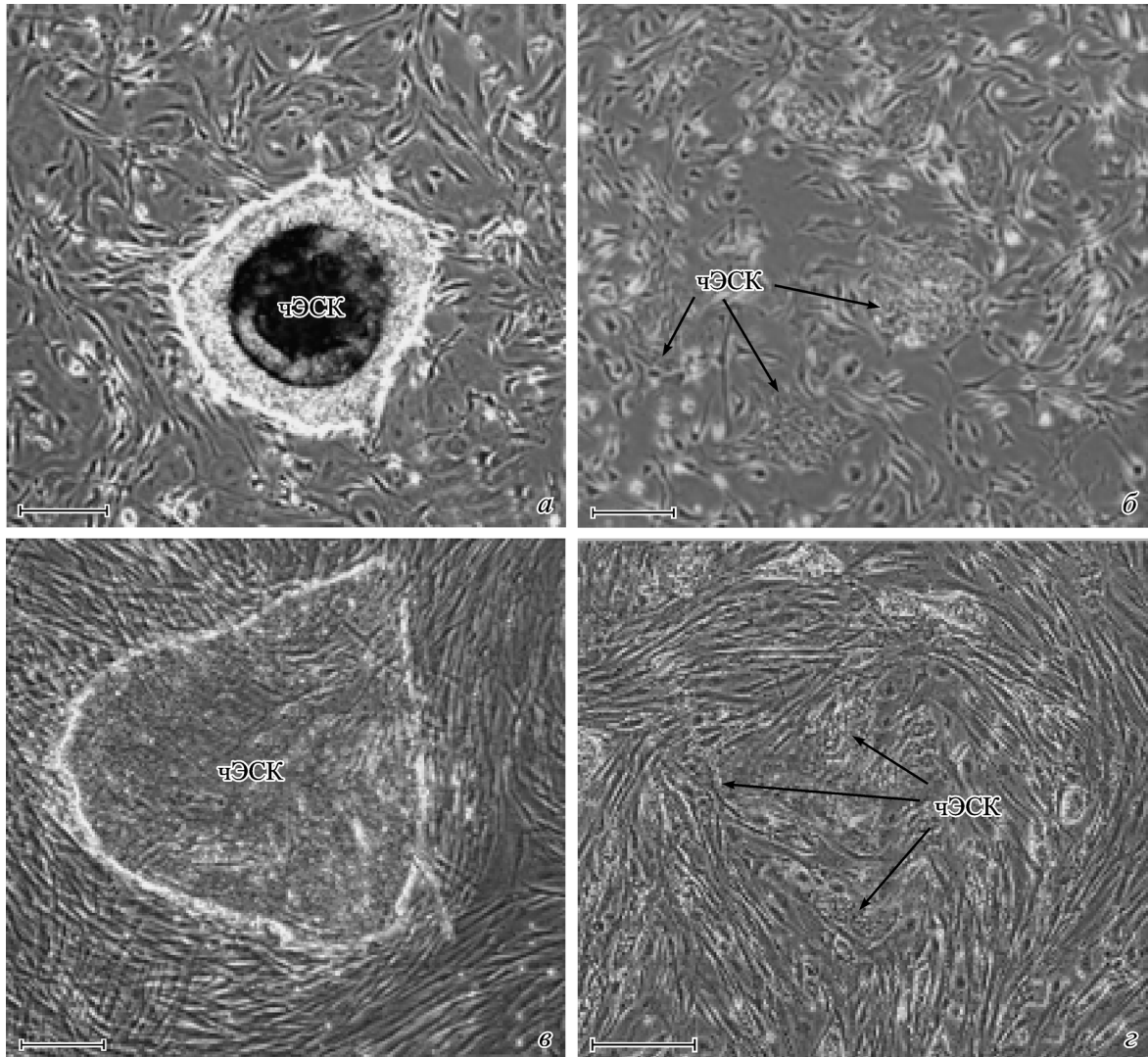
ния случайно или направленно, например при экспансии или направленной дифференцировке стволовых клеток *in vitro* в формате сложных клеточных систем, при совместном культивировании с клетками животных. Более того, в некоторых случаях стволовые клетки, взятые от доноров-животных, действительно могут быть пересажены человеку. Так, обращает на себя внимание сообщение о пересадке больному СПИД стволовых клеток костного мозга бабуина, произведенной в 1995 г. в Главном клиническом исследовательском центре Главного госпиталя Сан-Франциско, США (Michaels et al., 2004). Ксенотрансплантация была призвана восстановить иммунную систему больного тяжелой формой СПИД человека; при этом ожидалось, что это будет обеспечено резистентностью бабуинов (как и многих других нечеловекообразных обезьян) к вирусу иммунодефицита человека (HIV-1). Спустя 8 лет после трансплантации исследователи были вынуждены констатировать, что некоторое улучшение состояния больного было лишь транзиторным. В частности, у больного, находившего до трансплантации в тяжелом состоянии и отягощенного по целому ряду систем, повысился тонус, появился аппетит, были отмечены заметная прибавка веса и исчезновение многих хронических симптомов, включая хронический насморк, бронхоспазм, потливость и себорейный дерматит, восстановление чувств вкуса и запаха. Положительный эффект наблюдался в течение 11 мес, после чего исчез, но в течение еще целых 3 лет после трансплантации у больного не было отмечено вторичных инфекций. В то же время в отдаленной перспективе ксенотрансплантация не привела к ожидаемым результатам: восемью годами позже состояние больного оставалось тяжелым. Необходимо отметить высокое качество организации данного клинического эксперимента. Обращает на себя внимание особая осторожность, с которой врачи подошли к риску возникновения ксенозоонозов у реципиента, тяжелое состояние которого могло сделать исход любой новой инфекции смертельным для больного. Обезьяна-донор (родившаяся в лаборатории в США) была тщательнейшим образом обследована на наличие у нее клинических и лабораторных признаков целого ряда зоонозных инфекций, включая вирусные (в том числе многие герпес-вирусные, ретровирусные и филловиральные), паразитарные (включая токсоплазмоз и бабезиоз), туберкулез и т. д. Тесты на отдельные микроорганизмы и вирусы (в том числе видоспецифичные) производились многократно, и последние 3 мес перед забором стволовых клеток обезьяна провела в строгом карантине. Такой строгий подход закономерно привел к тому, что у данного больного ксенотрансплантация не сопровождалась клиническим развитием ксенозоонозных инфекций.

Однако существуют сведения о том, что отдельными лечебными и косметологическими учреждениями (в том числе в России) нелегально производятся трансплантации стволовых клеток (или, во всяком случае, клеточного материала), полученных от рыб или животных, например от эмбрионов свиней. Этот вопрос поднимался, в частности, на заседании в формате «круглого стола», проводившегося в Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова в ноябре 2004 г. и посвященного законодательным аспектам использования стволовых клеток. С точки зрения эпидемиологии риск подобного незаконного подхода является весьма значимым. Действительно, латентные вирусы бабуинов и свиней в норме являются видоспецифичными, но попадание их в организм человека, иммунитет которого ослаблен инфекцией или иммуносупрессорной

терапией, может привести к проявлению заболевания у него. Известны клинические случаи возникновения у людей нечеловеческих вирусных заболеваний (в первую очередь вызываемых различными видами вирусов герпеса), передавшихся от обезьян (африканских зеленых мартышек). Потенциально смертельными для человека могут стать вирусы и других видов обезьян и других животных, в том числе свиней (рекомендуется непревзойденный обзор: Michaels, 1997). Случаи болезни Ауески (псевдобешенства), вызываемой специфичными для обезьян вирусами цитомегаловирусной инфекции, заболевания, вызываемого обезьяньим пенным вирусом (SFV), и других вирусных инфекций уже наблюдались у человека, к счастью очень редко (Michaels, 1997, 1998; Wolfe et al., 2004; Calatini et al., 2007; Roess et al., 2010). Тем не менее это не позволяет игнорировать абсолютную необходимость строжайшего контроля в исследованиях, проводящихся над животными, и особенно в клиническом применении клеток и тканей животных у человека. Необходимо также отметить и то обстоятельство, что отнюдь не все заболевания животных хорошо изучены или даже известны. Именно из-за этого диагностика некоторых заболеваний или наличия латентных инфекций у потенциального животного-донора на этапе подготовки к трансплантации может быть затруднена (Roess et al., 2010; Wang, 2011).

Следует отметить несколько документированных случаев развития ксенозоонозов. Так, два первых пациента, получивших пересадку печени бабуина (второй получил также пересадку стволовых клеток костного мозга, взятых от этого же животного-донора) в Питтсбургском институте трансплантологии (США) в 1992—1993 гг. и скончавшихся вскоре после этих процедур, оказались инфицированными сразу двумя специфичными для обезьян вирусами — SFV и эндогенным ретровирусом бабуинов BaEV, причем обнаружено это было только посмертно (Allan et al., 1998). Известно и об обнаружении генов эндогенных ретровирусов свиньи (PERV) и антител к этому вирусу в клетках большого числа реципиентов, получивших органы и (или) клетки свиней, хотя в данном случае клинически заболевание не проявлялось (Paradis et al., 1999). Показательно и то, что в ряде случаев клиникой не велся даже учет пациентов, подвергающихся некоторым видам ксенотрансплантационной терапии.

Как уже упоминалось выше, механизм развития ксенозоонозов у реципиентов трансплантации стволовых клеток или их производных может быть непрямым, т. е. не основываться на непосредственном использовании клеток животных в качестве целевого субстрата трансплантации. Так, в течение долгого времени согласно общепринятому методу эмбриональные стволовые клетки (ЭСК; в том числе ЭСК человека, чЭСК) культивировали *in vitro* на подложке из «питающих» (фидерных) клеток, в качестве которых использовали мышинные эмбриональные фибробласты (см. рисунок, а, в). Тот же тип питающих клеток используется для экспансии эпидермальных кератиноцитов человека (Rheinwald, Green, 1975). По отношению к гемопоэтическим стволовым клеткам (ГСК) человека свойства питающих клеток способны проявлять стромальные клетки животных, в том числе клетки линий OP9 и C3H10T1/2 (Ishigaki et al., 2009; Wiesel et al., 2009). Действительно, ГСК способны эффективно пролиферировать в условиях микроокружения («ниши») костного мозга, имеющего весьма сложный клеточный состав. Использование первичных культур или линий стромальных клеток *in vitro* в формате сложных клеточных систем ими-



Культивирование эмбриональных стволовых клеток человека (чЭСК) линий SA002 (а, в) и HUES-3 (б, г) на питающих (фидерных) клетках мышиноного (а, б) и человеческого (в, г) происхождения (эмбриональные фибробласты мыши и неонатальные фибробласты крайней плоти человека соответственно).

Стрелками отмечены отдельные кластеры чЭСК линии HUES-3. Масштабные отрезки — 100 мкм.

тирует эффекты, оказываемые нишей костного мозга в приложении к ГСК. Как ЭСК, так и ГСК являются ценнейшими субстратами клеточной терапии (заместительной и восстановительной), что делает особо актуальной задачу эффективной экспансии этих типов клеток *in vitro* с минимизацией рисков, ассоциированных с используемыми протоколами экспансии.

Механическая или ферментативная диссоциация клеток и последующее их культивирование с переносом на «дочерние» чашки Петри или плашки является основным методом, позволяющим нарабатывать значительные объемы ЭСК при культивировании *in vitro*. Аналогично в большинстве случаев этап диссоциации применяется на этапах подготовки клеточного материала (производных стволовых клеток) для фактической трансплантации. При этом используются либо стеклянные иглы, либо «клеточные ножи» (механическая диссоциация), либо ферменты (например, трипсин, папаин и аккутаза — ферментативная диссоциация). Применение этих методов не дает полной уверенности в том, что в процессе отделения стволовых клеток от подложки питающих (фидерных) клеток неко-

торое количество последних не контаминирует трансплантационный материал. Собственный опыт показывает, что даже варианты протоколов ферментативной диссоциации сложных клеточных систем, направленные на селективное отделение стволовых клеток от подложек, не являются полностью эффективными: доля фидерных клеток при этом составляет до 0.1 % от общего числа клеток в суспензии. Следует также вновь указать на то, что полное отсутствие контаминирующих клеток животного происхождения в клеточном материале, являющемся субстратом трансплантации, не ликвидирует риска развития вирусных ксенозоонозов, основанных на очерченном выше механизме, в случае если стволовые клетки контактировали с клетками животных на любом предшествующем этапе, в том числе отдаленном.

В начале 2005 г. была опубликована вызвавшая большой резонанс статья группы авторов из Университета Калифорнии в Сан-Диего и Института Салка (США). Авторами данной работы было убедительно показано, что стволовые клетки человека, культивируемые на мышинных питающих клетках, начинают использовать некото-

рые неспецифические для человека химические субстанции, продуцированные последними, метаболически замещающая ими свои собственные (Martin et al., 2005). Более того, данный эффект наблюдался и в течение некоторого времени после изолирования стволовых клеток человека от источников ксеногенных субстратов. Авторы заключили, что подобный эффект может привести (и приводит) к развитию иммунологических реакций на чужеродные антигены в теле реципиента. Оказывается, они происходят, несмотря на то что сами клетки являются человеческими и по собственному антигенному профилю совместимы с иммунной системой реципиента. Развивающийся «наведенный» иммунный ответ может затруднить достижение терапевтического эффекта. Одним из важнейших выводов, сделанных авторами данного исследования, было то, что с точки зрения безопасности все работы со стволовыми клетками человека должны быть начаты заново: с линиями стволовых клеток, никогда не контактировавшими с клетками животных.

Эта проблема проявляется и в ситуации, когда клетки животных используются как фактор, обеспечивающий не экспансию, а направленную дифференцировку стволовых клеток. Классическим в этом отношении примером является сокультивирование чЭСК со стромальными клетками мыши для достижения высокоэффективной дифференцировки стволовых клеток в дофаминергические нейроны. Предложенный в 2000 г. (Kawasaki et al., 2000), данный метод широко используется в экспериментах. Аналогично механизму действия питающих клеток возможность запуска и направления дифференцировки стволовых клеток в сложной клеточной системе может быть обусловлена двумя механизмами — секрецией в единую питательную среду коктейля ростовых и сигнальных факторов и экспрессией на внешней клеточной мембране специфических молекул. Вариантом применения сложных клеточных систем является применение так называемых кондиционированных (приспособленных) питательных сред, обогащенных метаболитами фидерных клеток, отделенных от второго типа клеток физически (культивируемых полностью независимо). После 24—48 ч культивирования питающих клеток среду собирают, очищают от клеток центрифугированием и используют для культивирования соответствующего типа стволовых (или иных) клеток. Еще одним вариантом применения того же метода является культивирование в сложной клеточной системе двух типов клеток, разделенных полупроницаемой мембраной, ограничивающей межклеточные взаимодействия. Однако существующие данные указывают на то, что эти варианты сложных клеточных систем несколько менее эффективны, чем собственно сокультивирование двух типов клеток в единой питательной среде (Kawasaki et al., 2000), что не позволяет заменить первый подход полностью.

Даже в том случае, когда стволовые клетки человека не контактируют с клетками животных, также существует риск того, что они подвергнутся воздействию факторов, имеющих животное происхождение. Уже на этапе выделения внутренней клеточной массы (ВКМ) бластоцист в попытках получения линий чЭСК широко применяемая иммунохирургическая технология может быть основана в том числе и на использовании ферментов, имеющих животное происхождение. Одним из важнейших компонентов питательных сред, используемых в культивировании клеток *in vitro* на последующих этапах, является сыворотка. Исключением не являются и стволовые клетки: фе-

тальная бычья сыворотка (также «эмбриональная телячья сыворотка» или «сыворотка плодов коровы») широко используется в протоколах пролиферации и дифференцировки стволовых клеток человека, как и в пролиферации питающих клеток. Фетальная бычья сыворотка (как и прочие аналогичные сыворотки) является сложнейшей смесью натуральных питательных факторов, обеспечивающих выживание и рост клеток *in vitro*. Воспринимая чужеродные вещества из питательной среды, содержащей животную сыворотку, человеческие клетки могут замещать ими свои собственные (Martin et al., 2005) аналогично тому, как если бы они воспринимали их при непосредственном сокультивировании с чужеродными клетками. Применение таких клеток для трансплантации будет связано с рисками, обусловленными опосредованным воздействием ксеногенных факторов. С точки зрения инфекционной безопасности применение сертифицированных и стерилизованных животных сывороток в культивировании стволовых клеток не несет в норме значительного риска. Однако избежать ни его, ни связанных с применением натуральных сывороток иммунологических осложнений все же нельзя полностью.

В дополнение к этому следует также отметить, что большую роль в обеспечении эффективной пролиферации и дифференцировки стволовых клеток *in vitro* играют многообразные факторы роста, например такие, как факторы роста фибробластов FGF-2 (bFGF), FGF-8, FGF-20 и многие другие. Предполагается, что некоторые из этих факторов могут быть также использованы для улучшения выживаемости производных стволовых клеток в ходе трансплантации (Corgeia et al., 2008). Однако в ряде случаев они также имеют животное происхождение и могут быть расценены как еще один потенциальный источник передачи человеку-реципиенту ксеногенного материала. Наконец, некоторую долю риска несет в себе даже просто покрытие используемых для работы с клетками пластиковых поверхностей натуральными субстанциями, такими как желатин или коллаген, что бывает необходимо на отдельных этапах работы со стволовыми клетками.

Пути решения

Как очерчено выше, и ксенотрансплантация, и экспозиция стволовых клеток человека к действию факторов ксеногенного происхождения связаны с риском развития у реципиентов трансплантации клеточного материала ксенозоонозов и иммунного ответа на антигены клеток животных. Этот фактор в значительной степени ограничивает широкое внедрение в клиническую практику методов клеточной терапии. Однако направленные усилия в данной области позволяют надеяться, что большинство перечисленных выше механизмов, лежащих в основе ксеногенных рисков, могут быть обойдены при использовании новых материалов и методов выделения и экспансии клеток *in vitro*.

Исходные, широко используемые протоколы получения (установления) линий чЭСК были основаны на выделении ВКМ человеческих бластоцист (обычно на этапе, соответствующем дням эмбрионального развития E4—E5), не использованных в ходе курса лечения бесплодия методом экстракорпоральной (искусственного) оплодотворения (ЭКО). Выделенные из ВКМ бластоцист клетки культивировались затем на питающих (фидерных) клетках в присутствии сыворотки и необходимых росто-

вых факторов. Широкое распространение получил основанный на применении антибиотиков и факторов комплемента иммунохирургический метод выделения ВКМ бластоцист, позволяющий разделить бластоцисту и клетки трофобластодермы (Solter, Knowles, 1975), способной служить источником иных популяций стволовых клеток. Данный метод основан на использовании ферментов животного происхождения, однако к настоящему времени с успехом используются и другие техники выделения ВКМ бластоцист, включая механическую изоляцию (микрохирургия при помощи лазерного луча или клеточного ножа) и обработку бластоцист проназой (имеющей бактериальное происхождение смесью эндо- и экзопроотеиназ, обладающей высокой ферментативной активностью по отношению к белкам) (Kim et al., 2005). Кроме того, даже уже хорошо отработанный иммунохирургический метод может быть адаптирован для применения так называемого раствора Тайрода (M. V. Tyrode) — солевого раствора, способного растворять блестящую оболочку бластоцист. Возможна также селекция бластоцист, спонтанно «вылупившихся» из блестящей оболочки (*zona pellucida*; также «блестящая зона») (Heins et al., 2004). Линии чЭСК могут быть с успехом получены и на других этапах эмбрионального развития (Shamblott et al., 1998; Strelchenko et al., 2004; Suss-Toby et al., 2004). Получение линий ЭСК возможно также с использованием метода переноса ядра соматической клетки в энуклеированную яйцеклетку, что было доказано сначала для ЭСК грызунов и приматов, а затем и человека (French et al., 2008). Однако практическое применение этого метода в значительной степени блокируется прямыми законодательными и этическими запретами.

В течение многих лет для получения линий ЭСК (в том числе чЭСК) и их дальнейшей экспансии *in vitro* использовались исключительно эмбриональные фибробласты мыши, способные (по полностью так и не объясненным причинам) поддерживать их пролиферацию *ex vivo* в недифференцированном состоянии. Лишь в 2002—2003 гг. тремя группами были почти одновременно предложены протоколы, позволяющие осуществлять успешную пролиферацию чЭСК на человеческих же питающих клетках (Richards et al., 2002; Amit et al., 2003; Novatta et al., 2003), что позволяет избежать контакта с чужеродными клетками на данном этапе. Описанный принцип получил широкое признание, и хотя не все линии чЭСК оказались способными к успешной пролиферации на питающих клетках человека, многие из них оказались в этом отношении достаточно «универсальными» после соответствующих адаптаций протокола. В настоящее время для пролиферации чЭСК *in vitro* в качестве питающих клеток используются, в частности, следующие виды клеток человека: клетки эндометрия взрослых, клетки паренхимы молочной железы взрослых, клетки эпителия фаллопиевых (маточных) труб взрослых, эмбриональные фибробласты и фибробласты крайней плоти новорожденных (Richards et al., 2003; Anisimov et al., 2011) (см. рисунок, в, з). Последний вариант является, вероятно, наиболее удобным, так как обрезание (иссечение крайней плоти полового члена) практикуется не только в ряде этнических и религиозных групп (евреи, мусульмане, большинство мальчиков, рожденных в США), но и по медицинским показаниям (фимоз). Это делает распространяемые рядом биомедицинских компаний культуры фибробластов крайней плоти новорожденных достаточно доступными, в том числе и по цене. Чрезвычайно интересной является исследователь-

ская работа, в которой было показано, что чЭСК возможно культивировать на питающих клетках, полученных из самих чЭСК (Yoo et al., 2005), способных в определенных условиях дифференцироваться в стабильные клеточные линии фибробластов. При этом такие клетки (производные чЭСК) не только пролиферативно активны, но и проявляют по отношению к чЭСК свойства питающих клеток.

Весьма актуальной задачей является идентификация типов клеток человека, способных проявлять свойства питающих клеток по отношению к ГСК человека, обеспечивая, таким образом, возможность экспансии этого типа клеток *in vitro*, что имеет большое фундаментальное и практическое значение (Sorrentino, 2004). В частности, техника аспирации костного мозга для выделения ГСК связана с риском развития у донора значимых осложнений, как и мобилизация стволовых клеток в периферическую кровь (являющаяся также весьма дорогостоящей процедурой). Более того, в определенных клинических ситуациях (престарелый возраст, наличие онкологических и хронических гнойных заболеваний и др.) получение от донора большого числа ГСК затруднено. В приложении к экспансии ГСК человека *in vitro* большие перспективы имеет применение мезенхимных стволовых клеток (МСК), которые могут быть выделены не только из аспирата костного мозга (параллельно с ГСК), но и из более доступных источников, включая подкожную жировую ткань. В каждом случае питающие клетки человека должны удовлетворять следующим ключевым критериям: их совместное культивирование со стволовыми клетками человека (например, ЭСК и ГСК) в формате сложных клеточных систем должно позволять им сохранять свои основные биологические свойства (в первую очередь пролиферативную активность и пластичность); кроме того, сами по себе питающие клетки человеческого происхождения должны происходить из доступного биологического материала, и технологии их экспансии *in vitro* и митотической инактивации (при необходимости) не должны представлять значительных трудностей. Соответственно лишь идентификация кандидатного типа питающих клеток, удовлетворяющего всем этим критериям по отношению к ГСК человека, позволит использовать подобную систему в практике с успехом, достигнутым ранее для чЭСК.

Важным компонентом совокупности ксеногенных рисков является риск, основанный на контаминации субстрата трансплантации резидуальными питающими клетками животного происхождения. Стандартным методом является митотическая инактивация питающих клеток γ -иррадиацией или обработкой антимиотическими препаратами (митомицином С), но если пролиферативная активность питающих клеток подавляется эффективно и необратимо, то их физическая селекция (абляция) в формате обогащения или обеднения исходных клеточных популяций, экспрессирующих специфические маркеры, оказывается в этом случае трудно осуществимой. Широко используемая технология сортировки клеток по флуоресценции красителей, аффинных к конкретным поверхностным маркерам клеток (активированный флуоресценцией сортировка клеток), может привести к значимому снижению жизнеспособности клеток-продуктов сортировки; данная проблема успешно решена в современных моделях сортировки. Большие перспективы имеет также активированный магнитным полем сортировка клеток, основанный на применении магнитных микрочастиц с фиксированными на них специфическими антителами (Semple et al., 1993).

Привлекательной альтернативой борьбе с контаминацией субстрата трансплантации фидерными клетками может являться культивирование чЭСК в бесфидерных условиях, т. е. без поддержки питающих клеток. Один из вариантов подобного подхода основан на использовании приспособленных сред. Хотя это позволяет избежать непосредственного контакта клеток человека с чужеродными клетками, приспособленная среда оказывается насыщенной секретруемыми ими веществами, что снижает уровень воздействия ксеногенных факторов на данном этапе, но не сводит его к нулю. Более выгоден с этой точки зрения альтернативный подход, впервые сформулированный в патентной заявке, датированной июлем 2005 г., под авторством Дж. Томпсона и М. Левенштейна (Thompson, Levenstein) и в обосновывающей их приоритет научной публикации (Levenstein et al., 2006). Применяя чрезвычайно высокие концентрации основного фактора роста фибробластов (bFGF, также известного как FGF-2), авторы сумели добиться длительной пролиферации чЭСК в бесфидерных условиях с эффективностью, близкой к наблюдаемой в экспериментах с использованием «приспособленной среды». При этом даже после >150 пассажей чЭСК сохраняли способность вызывать развитие тератомы при пересадке подопытным животным и демонстрировали экспрессию маркеров, присущих недифференцированным чЭСК (Levenstein et al., 2006). Следует, однако, отметить, что вариабельность свойств отдельных линий чЭСК приводит к тому, что для некоторых из них подобный подход оказывается малополезным: в этих случаях даже высокие (≥ 100 нг/мл) концентрации bFGF в питательной среде оказываются неспособными заместить питающие клетки. Кроме того, важным фактором оказывается и весьма высокая цена bFGF.

Принципиально иным подходом к бесфидерному культивированию стволовых клеток являются попытки применить особые материалы, в том числе имитирующие физико-химические свойства биологических поверхностей. Классическим в этом отношении материалом является «Матригель» (Matrigel), в состав которого входят гемоглобин, ламинин, коллаген IV типа и протеогликаны (Kleinman et al., 1982). Однако и сам «Матригель» также является ксеногенным фактором, поскольку представляет собой натуральный продукт, а именно растворимый экстракт базальной мембраны ткани саркомы мышей (опухоль Engelbreth—Holm—Swarm, EHS) с соответствующей сложностью стандартизации его химического состава.

Как уже говорилось выше, важным фактором роста и дифференцировки стволовых клеток различных типов является животная сыворотка, которая также используется для приготовления сред для заморозки стволовых клеток (криосред) в ходе их экспансии. Сыворотка представляет собой сложную смесь натуральных субстратов и факторов и может быть расценена как наиболее концентрированный ксеногенный фактор из всех, с какими стволовые клетки человека контактируют *in vitro*. В течение последнего десятилетия производятся попытки разработать протоколы, позволяющие заменить животную сыворотку. В частности, на некоторых этапах культивирования стволовых клеток человека используются так называемые заменители сыворотки, представляющие собой стандартизованные смеси растворов аминокислот и других питательных факторов. К сожалению, во многих случаях эти факторы также не являются синтетическими, и хотя контроль над качеством и безопасностью применения таких заменителей значительно упрощается, определенный

риск, несомненно, сохраняется и при их использовании вместо фетальной бычьей сыворотки. Другим чрезвычайно многообещающим подходом является применение в работе со стволовыми клетками не животной, а человеческой сыворотки, получаемой от доноров. Современная технология позволяет получать до 250 мл богатой факторами роста сыворотки от одного здорового донора (Tallheden et al., 2005). Меры обеспечения инфекционной безопасности сыворотки крови при этом полностью совпадают с таковыми для крови, являющейся хорошо освоенными станциями переливания крови и гемотрансфузиологическими отделениями и не представляют значительных трудностей. Как и тромбоцитарный лизат, сыворотка крови человека является эффективным заменителем сыворотки животных при экспансии стволовых клеток *in vitro* и может применяться в качестве компонента криосред. Более того, чрезвычайно важной является теоретическая возможность использования для работы с конкретными первичными культурами стволовых клеток человека (например, ГСК и МСК) аутологичной сыворотки или сыворотки, полученной от близких родственников донора стволовых клеток.

Экспансия стволовых и некоторых видов прогениторных клеток *in vitro*, как и экспансия питающих клеток, может производиться с использованием поверхностей, дополнительно обработанных для получения особых свойств: обычно ламинином, поли-L-лизинном, фибронектином, желатином, коллагеном и некоторыми другими веществами или их смесями, например поли-DL-орнитинном и ламинином или поли-L-лизинном и фибронектином. Во многих случаях биомедицинская промышленность предоставляет выбор, и данные материалы (покрытия) могут иметь животное либо человеческое происхождение. Ламинин, например, может быть получен из плаценты человека или из ткани саркомы мыши (уже упоминавшейся выше опухоли EHS), фибронектин — из фибробластов крайней плоти новорожденных, а также из сыворотки крови человека, крупного рогатого скота либо мышей. В случае, когда стволовые клетки человека являются объектом изучения, большее значение имеет цена субстрата, в то время как для практического применения стволовых клеток человека в клинической практике важнейшую роль играет именно его происхождение, определяющее ксеногенную безопасность на данном этапе.

Достижения современной химической промышленности позволяют надеяться и на то, что в течение ближайших лет удастся получить синтетические материалы, не нуждающиеся в дополнительной обработке субстратами для достижения необходимых свойств, например адгезивных. Многообещающим в этом отношении является опыт компании Corning (США), использовавшей так называемую технологию кислородной плазмы для придания пластику неадгезивных свойств. Клетки (в том числе и стволовые клетки) способны в течение длительного времени находиться в изготовленных из такого материала плашках в виде суспензии, что может быть важным на некоторых этапах протокола дифференцировки. Компания Becton, Dickinson (США) производит пластик линии «Примария» (Primaria), поверхность которого насыщается положительно заряженными азотсодержащими группами, обеспечивая ему чрезвычайно высокую гидрофильность, соответствующую поверхности, обработанной желатином.

В заключение данного раздела хотелось бы отметить, что все приведенные выше примеры являются дискретными

ми, относясь к самым разным этапам работы со стволовыми клетками разных типов. В то же время они хорошо иллюстрируют общий прогресс исследований, проводимых в этой области, и внушают уверенность в приближении дня, когда масштабное внедрение основанных на принципах клеточной терапии подходов в клиническую практику станет реальностью.

Заключение

Применение стволовых клеток имеет огромные перспективы в лечении многих заболеваний. Однако только строгий государственный контроль и профессионализм персонала, задействованного в работе со стволовыми клетками на всех этапах, могут обеспечить приемлемый уровень безопасности реципиентов, в том числе с точки зрения рисков развития онкологических и инфекционных осложнений. Недооцененными, но весьма значимыми являются риски ксеногенного характера, в первую очередь риск развития ксенозоонозов у реципиентов трансплантаций клеточных субстратов в результате их контаминации клетками животных. Идентификация типов клеток человека, способных эффективно стимулировать пролиферацию и направлять дифференцировку человеческих стволовых клеток *in vitro*, имеет, таким образом, большое значение и является крайне актуальной. В общей сложности рассмотренные примеры вариантов снижения уровня ксеногенных рисков позволяют надеяться на то, что прогресс технологии позволит избежать неверной интерпретации результатов исследований биологии стволовых клеток человека, культивируемых *in vitro*. Наиболее важной будет при этом являться возможность обойти препятствия, возникающие при использовании стволовых клеток в клинической практике.

Поисковая НИР «Разработка технологии экспансии гемопоэтических стволовых клеток человека *in vitro* в сложных клеточных системах, без использования клеток животных» проводится в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг. (Государственный контракт № П810).

Список литературы

- Анисимов С. В. 2009а. Клеточная терапия болезни Паркинсона. II. Применение соматических стволовых клеток. Успехи геронтол. 22 (1) : 150—166.
- Анисимов С. В. 2009б. Клеточная терапия болезни Паркинсона. III. Применение неонатальных, фетальных и эмбриональных стволовых клеток. Успехи Геронтол. 22 (2) : 296—315.
- Никольский Н. Н., Габай И. А., Сомова Н. В. 2007. Эмбриональные стволовые клетки человека. Проблемы и перспективы. Цитология. 49 (7) : 529—537.
- Allan J. S., Broussard S. R., Michaels M. G., Starzl T. E., Leighton K. L., Whitehead E. M., Comuzzie A. G., Lanford R. E., Leland M. M., Switzer W. M., Heneine W. 1998. Amplification of simian retroviral sequences from human recipients of baboon liver transplants. AIDS Res. Hum. Retroviruses. 14 : 821—824.
- Amit M., Margulets V., Segev H., Shariki K., Laevsky I., Coleman R., Itskovitz-Eldor J. 2003. Human feeder layers for human embryonic stem cells. Biol. Reprod. 68 : 2150—2156.
- Anisimov S. V., Christophersen N. S., Correia A. S., Hall V. J., Sandelin I., Li J. Y., Brundin P. 2011. Identification of molecules derived from human fibroblast feeder cells that support the proliferation of human embryonic stem cells. Cell. Mol. Biol. Lett. 16 : 79—88.
- Anisimov S. V., Christophersen N. S., Correia A. S., Li J. Y., Brundin P. 2007. «NeuroStem Chip»: a novel highly specialized tool to study neural differentiation pathways in human stem cells. BMC Genomics. 8 : 46.
- Anisimov S. V., Morizane A., Correia A. S. 2010. Risks and mechanisms of oncological disease following stem cell transplantation. Stem Cell Rev. 6 : 411—424.
- Calattini S., Betsem E. B., Froment A., Mauclère P., Tortevoye P., Schmitt C., Njouom R., Saib A., Gessain A. 2007. Simian foamy virus transmission from apes to humans, rural Cameroon. Emerg. Infect. Dis. 13 : 1314—1320.
- Chagastelles P. C., Nardi N. B., Camassola M. 2010. Biology and applications of mesenchymal stem cells. Sci. Prog. 93 : 113—127.
- Correia A. S., Anisimov S. V., Li J. Y., Brundin P. 2008. Growth factors and feeder cells promote differentiation of human embryonic stem cells into dopaminergic neurons: a novel role for fibroblast growth factor-20. Front Neurosci. 2 : 26—34.
- French A. J., Adams C. A., Anderson L. S., Kitchen J. R., Hughes M. R., Wood S. H. 2008. Development of human cloned blastocysts following somatic cell nuclear transfer with adult fibroblasts. Stem Cells. 26 : 485—493.
- Hammer C. 2001. Xenotransplantation: perspectives and limits. Blood Purif. 19 : 322—328.
- Heins N., Englund M. C., Sjoblom C., Dahl U., Tønning A., Bergh C., Lindahl A., Hanson C., Semb H. 2004. Derivation, characterization, and differentiation of human embryonic stem cells. Stem Cells. 22 : 367—376.
- Hovatta O., Mikkola M., Gertow K., Stromberg A. M., Inzunza J., Hreinsson J., Rozell B., Blennow E., Andang M., Ahrlund-Richter L. 2003. A culture system using human foreskin fibroblasts as feeder cells allows production of human embryonic stem cells. Hum. Reprod. 18 : 1404—1409.
- Ishigaki T., Sudo K., Hiroyama T., Miharada K., Ninomiya H., Chiba S., Nagasawa T., Nakamura Y. 2009. Human hematopoietic stem cells can survive *in vitro* for several months. Adv. Hematol. 93 : 6761.
- Kawasaki H., Mizuseki K., Nishikawa S., Kaneko S., Kuwana Y., Nakanishi S., Nishikawa S. I., Sasai Y. 2000. Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity. Neuron. 28 : 31—40.
- Kim H. S., Oh S. K., Park Y. B., Ahn H. J., Sung K. C., Kang M. J., Lee L. A., Suh C. S., Kim S. H., Kim D. W., Moon S. Y. 2005. Methods for derivation of human embryonic stem cells. Stem Cells. 23 : 1228—1233.
- Kleinman H. K., McGarvey M. L., Liotta L. A., Robey P. G., Tryggvason K., Martin G. R. 1982. Isolation and characterization of type IV procollagen, laminin, and heparin sulfate proteoglycan from the EHS sarcoma. Biochemistry. 21 : 6188—6193.
- Langford G. A., Yannoutsos N., Cozzi E., Lancaster R., Elsom K., Chen P., Richards A., White D. J. 1994. Production of pigs transgenic for human decay accelerating factor. Transplant. Proc. 26 : 1400—1401.
- Levenstein M. E., Ludwig T. E., Xu R. H., Llanas R. A., VanDenHeuvel-Kramer K., Manning D., Thomson J. A. 2006. Basic fibroblast growth factor support of human embryonic stem cell self-renewal. Stem Cells. 24 : 568—574.
- Martin M. J., Muotri A., Gage F., Varki A. 2005. Human embryonic stem cells express an immunogenic nonhuman sialic acid. Nat. Med. 11 : 228—232.
- McKenzie I. F. C., Loveland B. E., Fishman J. A., Auchincloss F., Sandrin M. S. 1999. Xenotransplantation. In: Transplantation. Wiley-Blackwell, UK. 827—866.
- Menendez P., Bueno C., Wang L. 2006. Human embryonic stem cells: a journey beyond cell replacement therapies. Cytotherapy. 8 : 530—541.
- Michaels M. G. 1997. Infectious concerns of cross-species transplantation: xenozoonoses. World J. Surg. 21 : 968—974.
- Michaels M. 1998. Xenozoonoses and the xenotransplant recipient. Ann. N. Y. Acad. Sci. 862 : 100—104.
- Michaels M. G., Kaufman C., Volberding P. A., Gupta P., Switzer W. M., Heneine W., Sandstrom P., Kaplan L., Swift P., Da-

mon L., Ildstad S. T. 2004. Baboon bone-marrow xenotransplant in a patient with advanced HIV disease: case report and 8-year follow-up. *Transplantation*. 78 : 1582—1589.

Paradis K., Langford G., Long Z., Heneine W., Sandstrom P., Switzer W. M., Chapman L. E., Lockey C., Onions D., Otto E. 1999. Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue. *Science*. 285 : 1236—1241.

Park D. H., Borlongan C. V., Eve D. J., Sanberg P. R. 2008. The emerging field of cell and tissue engineering. *Med. Sci. Monit*. 14 : RA206—220.

Rheinwald J., Green H. 1975. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*. 6 : 331—344.

Richards M., Fong C. Y., Chan W. K., Wong P. C., Bongso A. 2002. Human feeders support prolonged undifferentiated growth of human inner cell masses and embryonic stem cells. *Nat. Biotechnol*. 20 : 933—936.

Richards M., Tan S., Fong C. Y., Biswas A., Chan W. K., Bongso A. 2003. Comparative evaluation of various human feeders for prolonged undifferentiated growth of human embryonic stem cells. *Stem Cells*. 21 : 546—556.

Roess A. A., Galan A., Kitces E., Li Y., Zhao H., Paddock C. D., Adem P., Goldsmith C. S., Miller D., Reynolds M. G., Zaki S. R., Damon I. K. 2010. Novel deer-associated parvovirus infection in deer hunters. *N. Engl. J. Med*. 363 : 2621—2627.

Semple J. W., Allen D., Chang W., Castaldi P., Freedman J. 1993. Rapid separation of CD4+ and CD19+ lymphocyte populations from human peripheral blood by a magnetic activated cell sorter (MACS). *Cytometry*. 14 : 955—960.

Shamblott M. J., Axelman J., Wang S., Bugg E. M., Littlefield J. W., Donovan P. J., Blumenthal P. D., Huggins G. R., Gearhart J. D. 1998. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 95 : 13 726—13 731.

Solter D., Knowles B. B. 1975. Immunosurgery of mouse blastocyst. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 72 : 5099—5102.

Sorrentino B. P. 2004. Clinical strategies for expansion of haematopoietic stem cells. *Nat. Rev. Immunol*. 4 : 878—888.

Sparrow R. 2009. Xenotransplantation, consent, and international justice. *Develop. World Bioethics*. 9 : 119—227.

Strelchenko N., Verlinsky O., Kukharensko V., Verlinsky Y. 2004. Morula-derived human embryonic stem cells. *Reprod. Biomed. Online*. 9 : 623—629.

Suss-Toby E., Gerecht-Nir S., Amit M., Manor D., Itskovitz-Eldor J. 2004. Derivation of a diploid human embryonic stem cell line from a mononuclear zygote. *Hum. Reprod*. 19 : 670—675.

Tallheden T., van der Lee J., Brantsing C., Mansson J. E., Sjogren-Jansson E., Lindahl A. 2005. Human serum for culture of articular chondrocytes. *Cell Transplant*. 14 : 469—479.

Wang L. F. 2011. Discovering novel zoonotic viruses. *NSW Public Health Bull*. 22 : 113—117.

Weisel K. C., Moore M. A., Kanz L., Mohle R. 2009. Extended *in vitro* expansion of adult, mobilized CD34+ cells without significant cell senescence using a stromal cell coculture system with single cytokine support. *Stem Cells Develop*. 18 : 229—234.

Wolfe N. D., Switzer W. M., Carr J. K., Bhullar V. B., Shanmugam V., Tamoufe U., Prosser A. T., Torimiro J. N., Wright A., Mpo-udi-Ngole E., McCutchan F. E., Bix D. L., Folks T. M., Burke D. S., Heneine W. 2004. Naturally acquired simian retrovirus infections in central African hunters. *Lancet*. 363 : 932—937.

Yoo S. J., Yoon B. S., Kim J. M., Song J. M., Roh S., You S., Yoon H. S. 2005. Efficient culture system for human embryonic stem cells using autologous human embryonic stem cell-derived feeder cells. *Exp. Mol. Med*. 37 : 399—407.

Zhou C. Y., McInnes E., Copeman L., Langford G., Parsons N., Lancaster R., Richards A., Carrington C., Thompson S. 2005. Transgenic pigs expressing human CD59, in combination with human membrane cofactor protein and human decay-accelerating factor. *Xenotransplantation*. 12 : 142—148.

Поступила 4 X 2011

RISKS OF THE XENOGENIC ORIGIN IN STEM CELLS APPLICATIONS

S. V. Anisimov

V. A. Almazov Federal Center for Heart, Blood and Endocrinology, St. Petersburg; e-mail: askold5@front.ru

Stem cells can be applied as the substrate of cell therapy of a variety of diseases, including those previously considered incurable. Furthermore, studying the fundamental mechanisms underlying proliferation and differentiation of stem and progenitor cells is most important to uncover the principles of growth, development, adaptation and regeneration, which could be altered in pathology. However, many steps of stem cell studies (including cell isolation, expansion and differentiation *in vitro*) are associated with factors of the xenogenic origin. Human stem cell exposure to the xenogenic factors over the various steps of work may complicate an interpretation of the proteomics, genomics, transcriptomics and metabolomics data. It is also associated with the risk of immune response and zoonoses development in cell transplantation recipients. In the review, key issue related to xenogenic factors in stem cell applications are discussed, as well as the possible means to lower the risks of the xenogenic origin.

Key words: stem cells, *in vitro* culturing, xenogenic factors, xenogenic risks, zoonoses.