

## СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ МЕНСТРУАЛЬНОЙ КРОВИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ СУБСТРАТ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

**© С. В. Анисимов,<sup>1, 2</sup> В. И. Земелько,<sup>1</sup> Т. М. Гринчук,<sup>1, 2</sup> Н. Н. Никольский,<sup>2, 3</sup>**

<sup>1</sup> Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова Министерства здравоохранения РФ,  
<sup>2</sup> Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург,  
<sup>и 3</sup> С.-Петербургский государственный политехнический университет;  
 электронный адрес: askold5@hotmail.com

Заместительная и восстановительная клеточная терапия имеет широкие перспективы в лечении многих заболеваний и травм. В качестве потенциальных субстратов клеточной терапии рассматриваются разные типы стволовых клеток, в значительной степени различающиеся по своим биологическим свойствам. Мезенхимные стволовые клетки (МСК) обладают относительной высокой пролиферативной активностью и высоким уровнем пластичности и могут быть дифференцированы не только в клетки мезенхимного ряда, но и в нейроны. Среди популяций МСК весьма доступными являются эндометриальные стволовые клетки (эМСК), в том числе эМСК менструальной крови. В настоящем обзоре анализируются биологические свойства таких клеток и их способность служить субстратом для клеточной терапии.

**Ключевые слова:** клеточная терапия, эндометриальные стволовые клетки, стволовые клетки менструальной крови.

**Принятые сокращения:** МСК — мезенхимные стволовые клетки, СК — стволовые клетки, эМСК — эндометриальные стволовые клетки.

Разработка подходов к лечению заболеваний и травм, основанных на принципах клеточной терапии, является в настоящее время весьма актуальной. Принципиально возможным является использование форматов заместительной и восстановительной клеточной терапии. Заместительная клеточная терапия основана на частичном замещении погибшей или нефункциональной клеточной популяции клетками донорского происхождения, в том числе аутологичными, аллогенными или ксеногенными. При этом субстратами заместительной клеточной терапии могут являться стволовые и прогениторные клетки (а также их производные) и клетки донорской ткани. Восстановительная же клеточная терапия основана на стимуляции собственных стволовых и прогениторных клеток организма внешними воздействиями.

Значимым потенциалом в качестве субстратов клеточной терапии обладают стволовые клетки (СК) разных типов, в том числе эмбриональные СК, гемопоэтические СК, некоторые из популяций резидентных (собственных) СК органов и тканей, например нейральные (нейрональные) СК, мезенхимные (стромальные, также часто имеющиеся мезенхимными) стволовые клетки (МСК) разного происхождения, а также индуцированные плорипотентные СК. После выделения СК способны пролиферировать *in vitro* и дифференцироваться в клетки разных функциональных типов, а также оказывать трофические и стимулирующие воздействия за счет синтеза биологически активных факторов. Для каждого типа стволовых и прогениторных клеток характерен комплекс свойств, определяющих как теоретическую, так и практическую

возможность их применения в терапии различных заболеваний. Идеальный тип субстрата клеточной терапии должен соответствовать следующим основным критериям: 1) быть легко доступным; 2) быть пригодным для эффективной экспансии *in vitro* без потери своих пролиферативных свойств при невозможности получения большого объема исходного клеточного материала; 3) быть способным оказывать значимый функциональный эффект (прямо или опосредованно); 4) быть максимально безопасным в применении.

По совокупности своих свойств МСК обладают целым рядом преимуществ над всеми другими типами стволовых клеток. Хотя их пролиферативный потенциал значительно уступает эмбриональным и индуцированным плорипотентным СК, их рассматривают как генетически стабильные и более доступные. Важнейшей нишой соматических СК организма является костный мозг, наиболее значимыми классами стволовых клеток которого являются гемопоэтические СК и МСК. В течение десятилетий аутологичные и аллогенные трансплантации цельного костного мозга и его фракций с высокой эффективностью применяются в клинической практике — в первую очередь по поводу гематологической и иммунной патологии. В отличие от нейрональных и эмбриональных СК, а также некоторых типов донорской ткани, используемой в клеточной терапии, костный мозг представляет собой относительно легко доступный субстрат и может быть получен в ходе процедур, являющихся рутинными для специализированных гематологических клиник.

Широко представленные в костном мозге гемопоэтические СК обладают минимальной пластичностью вне спектра форменных элементов крови. В частности, проводимые в течение последнего десятилетия эксперименты не подтвердили гипотезу о возможности получения функциональных нервных клеток из гемопоэтических СК (Castro et al., 2002; Wagers et al., 2002; Grove et al., 2004; Roybon et al., 2006). Производные гемопоэтических СК способны в определенных условиях дифференцироваться в клетки, экспрессирующие некоторые маркеры примитивных, незрелых нейральных клеток, однако во всех случаях их характеристики соответствуют клеткам микроглии (Visser et al., 1993; Wagers et al., 2002). Вместе с тем, уступая гемопоэтическим СК по пролиферативной активности, МСК костного мозга обладают значительно большей пластичностью. В отличие от гемопоэтических СК, МСК костного мозга являются относительно немногочисленной его популяцией и составляют лишь 0,01—0,001 % от общего объема ядерных клеток костного мозга. Следует отметить, что известный постулат «МСК костного мозга выполняют трофическую и поддерживающую функцию по отношению к гемопоэтическим СК в нише костного мозга и обладают остеогенным, хондрогенным и адипогенным потенциалом» является, несомненно, верным, но в значительной степени устарел.

В течение последнего десятилетия было неопровергнуто установлено, что уровень пластичности МСК костного мозга гораздо шире, чем считалось ранее. Эти клетки способны дифференцироваться не только в многочисленные типы клеток мезенхимного происхождения, включая клетки костной, хрящевой, мышечной, сухожильной и жировой тканей, но также в клетки другого происхождения, включая глиальные клетки и нейроны (Woodbury et al., 2000), гепатоциты (Sato et al., 2005) и клетки панкреатических островков (Choi et al., 2005), что было продемонстрировано и для животных, и для человека. Кроме того, МСК костного мозга обладают высокой миграционной способностью, секретируют большое число биологически активных молекул и модулируют параметры иммунитета. Этими ключевыми свойствами костномозговых МСК и обусловлена возможность их эффективного применения в качестве субстратов как заместительной, так и восстановительной клеточной терапии (Wang et al., 2011; Bernardo et al., 2012) для лечения гематологических, аутоиммунных, сердечно-сосудистых заболеваний, травм, заболеваний костно-суставной системы и др.

Применение аутологичных МСК взрослых не связано с этическими (и регуляторными) затруднениями, характерными для любых работ с клетками эмбрионального происхождения (включая стволовые и прогениторные клетки). Однако процедура пункции костного мозга связана с определенным количеством осложнений (например, с развитием хронического болевого синдрома, в том числе высокой интенсивности). Поэтому большое значение придается возможности использования альтернативных костному мозгу источников МСК. Клетки со свойствами МСК выделены из широкого спектра тканей взрослых, включая жировую ткань, скелетные мышцы, хрящи, сухожилия, пульпу зуба, периодонтальную связку, синовиальную мембрану, легкие и др. К настоящему времени самыми распространенными источниками для выделения МСК помимо костного мозга являются жировая ткань (Parker, Katz, 2006) и пуповинная кровь (Bieback, Klüter, 2007).

В последние годы появилось значительное число публикаций о выделении и использовании СК мезенхимной природы из эндометрия (эМСК). Ткань эндометрия имеет относительно сложную структуру, что определяет необходимость высокой организации и точности процессов миграции, пролиферации и дифференцировки собственных СК организма женщин. Эндометрий состоит из трех слоев: базального, который не отторгается во время менструации; поверхностного, состоящего из компактных эпителиальных клеток, которые выстилают полость матки; промежуточного, спонгиозного слоя. Последние два слоя составляют функциональный слой, подвергающийся основным циклическим изменениям в течение менструального цикла и отторгающийся в период менструации. Долгое время считалось, что именно базальный слой содержит клетки, пролиферативная активность и пластичность которых определяют возможность циклической регенерации эндометрия в течение всего детородного периода.

Роль стволовых клеток в циклической регенерации эндометрия была несомненной уже много лет назад (Prainishnikov, 1978; Padykula et al., 1989; Padykula, 1991). Однако собственно популяция эндометриальных СК была впервые изолирована из образцов ткани эндометрия (полученных в ходе гистерэктомии) и охарактеризована лишь в 2004 г. (Chan et al., 2004; Cho et al., 2004). Ряд учёных высказывают предположение о том, что одним из источников эМСК является ткань костного мозга (Kearns, Lala, 1982; Taylor, 2004; Schwab, Gargett, 2007).

В течение нескольких следующих лет биологические свойства эМСК были охарактеризованы более полно, в том числе в отношении пластичности (Schwab et al., 2005; Gargett et al., 2006, 2009; Schwab, Garbett, 2007; Wolff et al., 2007; Morelli et al., 2012). Японские учёные (Kato et al., 2007) выделили небольшую фракцию круглых клеток эндометрия, обладающих характерной особенностью выводить прижизненный ДНК-связывающий краситель Hoechst 33342 посредством АТФ-кассетного транспортера G2 (ABCG2). Это свойство и является уникальной характеристикой так называемой сторонней популяции клеток, обладающих свойствами стволовых/прогениторных (Goodell et al., 1996; Challen, Little, 2006).

Недавние исследования (Masuda et al., 2010) показали, что ABCG2<sup>+</sup>-клетки равномерно распределены по базальному и функциональному слоям эндометрия, две трети которого и отслаиваются во время пролиферативной фазы менструального цикла. Наличие ABCG2<sup>+</sup>-клеток в обоих слоях эндометрия позволяет предположить, что не только базальный, но и функциональный слой участвует в регенерации эндометриальной ткани (Cervelló et al., 2010, 2011).

В 2007—2008 гг. сразу несколько групп исследователей независимо друг от друга сумели выделить и охарактеризовать СК из образцов менструальной крови (Cui et al., 2007; Meng et al., 2007; Toyoda et al., 2007; Мусина и др., 2008; Dimitrov et al., 2008; Hida et al., 2008; Patel et al., 2008). Клетки десквамиированного эндометрия широко представлены в менструальной крови (особенно на второй день менструации), и выделение эМСК для последующего использования возможно даже из образцов малого объема. Разные экспериментаторы используют различные методики для выделения и культивирования эМСК *in vitro*, что приводит к выделению линий эМСК, различающихся между собой по свойствам и фенотипу. Нужно отметить, что могут иметься также различия между свой-

ствами популяций эМСК, выделенных из менструальной крови и из образцов ткани эндометрия (Gargett, Masuda, 2010; Allickson, Xiang, 2012).

Следует подчеркнуть, что единого специфичного поверхностного маркера для идентификации МСК не выявлено. В связи с этим Международное общество клеточной терапии декларировало следующие базовые критерии по определению мультипотентных МСК человека независимо от источника их происхождения (Husein, Thiemermann, 2010): 1) адгезивность к пластику при стандартных условиях культивирования; 2) позитивная экспрессия маркеров CD105, CD73, CD90 и отсутствие экспрессии гемопоэтических маркеров CD19, CD34, CD45 и HLA-DR (класса II); 3) способность дифференцироваться под воздействием определенных факторов в другие клетки мезодермы *in vitro*.

Наш опыт свидетельствует о рациональности простого метода селекции клеток эМСК как из образцов менструальной крови (Кирсанов и др., 2010; Земелько и др., 2011), так и из собственно ткани эндометрия (данные не опубликованы) путем адгезии, без дополнительного фракционирования и ферментативной обработки. Выделенные из обоих источников эМСК имеют типичную для всех МСК фибробластоподобную морфологию с характерными круговыми завихрениями и представляют собой гетерогенную популяцию клеток, состоящую в основном из стромальных и эпителиальных клеток эндометриальной железы. Полученные нами линии эМСК отвечают всем критериям Международного общества клеточной терапии по определению мультипотентных мезенхимных (стромальных) клеток человека и не отличаются от стронней популяции, описанной ранее (Kato et al., 2007). Единственное отличие состоит в том, что мы не наблюдали экспрессию маркера эмбриональных СК Oct4 при наличии экспрессии другого маркера эМСК SSEA-4. По нашим данным, более 50 % клеток в популяции эМСК экспрессируют SSEA-4, что свидетельствует о высоком уровне их пластичности (мультипотентности). В отличие от эмбриональных СК локализация этого антигена для эндометриальных СК сосредоточена в местах фокальных контактов. Сходная экспрессия SSEA-4 характерна и для МСК костного мозга (Gang et al., 2007).

Следует заметить, что экспрессия Oct4 в эМСК была описана лишь в некоторых работах и только при использовании метода ПЦР, хотя имеются также упоминания об экспрессии каталитической субъединицы теломеразы (Hert) и Nanog (Meng et al., 2007; Patel et al., 2008; Borlongan et al., 2010; Lin et al., 2011), экспрессируемых на высоком уровне в эмбриональных СК, обладающих *in vitro* высокой пролиферативной активностью.

Пролиферативная активность эМСК в культуре оценивается как высокая, время удвоения в среднем составляет 23–24 ч (Meng et al., 2007; Toyoda et al., 2007; Земелько и др., 2011), что соответствует их биологической роли. Экспансия эМСК *in vitro* не требует применения ростовых факторов и фидерных (питающих) клеток. Необходимо отметить, что число удвоений популяции эМСК в значительной степени зависит от состояния эндометрия и возраста донора. При этом эМСК обладают стабильным геномом и нетumorогенны, что соответствует данным литературы (Murphy et al., 2008).

В заданных условиях эМСК могут быть направленно дифференцированы в клетки тканей мезодермального (миоциты, кардиомиоциты, остеоциты, адипоциты, эндоцелиоциты), эктодермального (нейроны) и эндодермаль-

ного (гепатоциты, клетки поджелудочной железы и дыхательного эпителия) рядов (Meng et al., 2007; Patel et al., 2008). Некоторые авторы отмечают выраженный миогенний потенциал эМСК (Cui et al., 2007; Toyoda et al., 2007). По нашим данным и данным других исследователей отмечена предрасположенность эМСК к нейрогенезу (Borlongan et al., 2010; Земелько и др., 2011; Wolff et al., 2011). В совокупности с высокой доступностью эМСК их ключевые свойства (высокая пролиферативная активность, стабильность генома, высокий уровень пластичности) делают эти клетки потенциально весьма ценным субстратом клеточной терапии многих значимых заболеваний. Создание банка типированных по человеческому лейкоцитарному антигену образцов эМСК может стать ценнейшим ресурсом научных исследований и клинического применения. Преимущество эМСК над МСК пуповинной крови очевидны и заключаются в возможности многократного забора и криоконсервирования образцов в течение всего репродуктивного периода жизни женщины. Кроме того, соматическое происхождение эМСК обеспечивает возможность заблаговременной диагностики наследственных и трансмиссивных заболеваний.

В течение весьма короткого времени после отработки технологии выделения, экспансии и направленной дифференцировки эМСК *in vitro* эти клетки были использованы в трансплантационных экспериментах. В первом из таких экспериментов проводилась трансплантация выделенных из образцов ткани эндометрия и менструальной крови человека эМСК (интактных и преддифференцированных в миогенном направлении) в мышечную ткань мышей с дистрофией Дюшена (Cui et al., 2007). В результате наблюдалась частичная регенерация скелетной мышечной ткани. Идентифицированным механизмом этого процесса стало слияние между миоцитами реципиента и экспрессирующими дистрофин клетками человека донорского происхождения, производными эМСК. При этом площадь экспрессирующих дистрофин мышечных волокон была многократно выше после трансплантации именно эМСК менструальной крови по сравнению с эМСК, выделенными из ткани эндометрия, и контролем (Cui et al., 2007).

В работе Хида с соавторами выделенные из образцов ткани эндометрия и менструальной крови человека эМСК были с высокой эффективностью дифференцированы *in vitro* в предшественники кардиомиоцитов, демонстрирующие характерный комплекс признаков, включая способность к спонтанному сокращению (Hida et al., 2008). Трансплантация эМСК из образцов ткани эндометрия и менструальной крови человека в миокард модельным животным (крысам с моделированным инфарктом миокарда) продемонстрировала высокую эффективность дифференцировки клеток в кардиомиоциты *in vivo* в зоне инфаркта. При этом авторы пришли к заключению о том, что слияние донорских клеток и клеток реципиента не имело места. Для эМСК менструальной крови была показана возможность достичь функционального эффекта (уменьшения зоны фиброза и восстановления систолической функции левого желудочка у модельных животных), что позволило авторам сделать вывод о чрезвычайно высоком потенциале эМСК менструальной крови в качестве субстрата клеточной терапии сердечной патологии (Hida et al., 2008).

Высокий ангиогенный потенциал эМСК, соответствующий их биологической роли в циклическом восстановлении чрезвычайно богатой кровеносными сосудами

ткани эндометрия (Angle, 2008), послужил обоснованием для трансплантации эМСК менструальной крови мышам, у которых была смоделирована критическая ишемия конечностей (Murphy et al., 2008). *In vitro* такие клетки были способны стимулировать пролиферацию эндотелиальных клеток пупочной вены человека, широко используемой модели предшественников эндотелиоцитов. В pilotном эксперименте было также продемонстрировано предотвращение у животных-реципиентов трансплантации развития некроза, индуцированного перевязкой бедренных артерий и ее ветвей, однако в литературе не обнаруживается данных о завершении этого многообещающего исследования.

Отдельно стоит отметить исследование, где эМСК оказывают не трофический эффект, а, наоборот, выступают в роли антиканцерогенного фактора. Любопытно, что трансплантированные МСК десквамиированного эндометрия замедляли рост глиомы у крыс (Han et al., 2009). Другая экспериментальная модель, использованная этим же коллективом авторов для оценки потенциала эСК менструальной крови, — глиома крысы (инокуляция головного мозга клетками C6/LacZ7). В основу эксперимента легли работы, в которых демонстрировались тропизм гемопоэтических СК и МСК костного мозга к ткани глиомы и возможности улучшить выживаемость при глиоме при помощи клеточной (генно-клеточной) терапии (Nakamizo et al., 2005). В обоих случаях наблюдали статистически значимое уменьшение объема опухоли (на 49 и 46 % соответственно) по сравнению с контролем, что было обусловлено существенным снижением плотности сосудистой сети в опухоли. Помимо подавления патологического ангиогенеза трансплантация эМСК привела к снижению доли опухолевых клеток, экспрессирующих CD133, что соответствовало снижению процентной доли низкодифференцированных (активно пролиферирующих) клеток в составе опухоли (Han et al., 2009). Клетки вводили внутривенно и интракальмально, и клинический эксперимент подтвердил безопасность их применения (отсутствие эктопического роста и иммунных реакций) (Zhong et al., 2009). Как и в предыдущем случае, стратегия клинического эксперимента была основана на потенциале эМСК в подавлении патологического ангиогенеза, ассоциированного с рассеянным склерозом (Kirk et al., 2004).

В 2010 г. были опубликованы результаты исследования, в ходе которого оценивали потенциал эМСК менструальной крови в терапии инсульта (Borlongan et al., 2010). В этой работе использовали такие *in vitro* и *in vivo* модели инсульта, как первичные культуры нейронов крысы, культивируемые в гипоксических и (или) гипогликемических условиях, и окклюзия средней мозговой артерии соответственно. В первом случае проводили со-культурирование нейронов с эМСК менструальной крови человека либо их культивирование в питательной среде, кондиционированной эМСК. Результаты эксперимента *in vitro* позволили установить, что экспозиция нейронов с эМСК приводит к снижению числа нейронов, погибших в гипоксических и (или) гипогликемических условиях. При этом в среде были идентифицированы фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) и нейротрофин-3 (NT-3). Во втором случае, связанном с трансплантацией эМСК модельным животным, было выявлено снижение числа погибших нейронов у реципиентов и уменьшение выраженности моторной и поведенческой симптоматики инсульта. Авторы исследования заключили, что нейропропо-

текторный эффект эМСК менструальной крови обусловлен биосинтезом и секрецией этими клетками проангидиенных и нейротрофических факторов (Borlongan et al., 2010).

Чрезвычайный интерес представляет и перспектива использования эМСК менструальной крови в терапии болезни Паркинсона и вторичного паркинсонизма, патогенез которых обусловлен преимущественно потерей одного типа клеток (крупных дофаминергических нейронов субпопуляции A9) в одной известной анатомической локализации — компактной части черного вещества головного мозга (Анисимов, 2009).

Наконец, уже в 2009 г. исследовательский коллектив, включающий в себя авторов процитированной выше работы (Han et al., 2009), сообщил о проведении аллогенной трансплантации эМСК менструальной крови (после их экспансии *in vitro*) четырем больным рассеянным склерозом, что стало первым случаем их клинического применения (Zhong et al., 2009).

Удивительно, что в литературе отсутствуют ссылки о возможности использования эМСК для коррекции патологии самой эндометриальной ткани, тем более что имеются работы, в которых показано, что клетки с иммунотипом эМСК были использованы для лечения синдрома Ашермана, характеризующегося нарушением менструальной и детородной функций, обусловленным внутриматочными спайками (Gargett, Healy, 2011; Nagori et al., 2011). Клетки аутологичного костного мозга больных были отсортированы по экспрессии характерных для эМСК антигенных маркеров эМСК CD9, CD90 и CD133 и вводились в полость матки. Неоваскуляризация стенки матки сопровождалась утолщением эндометрия, достаточным для успешной имплантации и вынашивания беременности.

В 2008 г. была высказана весьма остроумная гипотеза о том, что регулярное попадание эМСК в кровь в ходе менструального цикла может играть активную протекторную роль в организме женщин детородного возраста. Потеря этого механизма после наступления менопаузы объясняет возрастание риска развития инфаркта миокарда, артериальной гипертензии, ожирения и сахарного диабета 2-го типа (Patki et al., 2008). Существует возможность того, что исследование уникальных биологических свойств эМСК может подтвердить эту гипотезу.

Исследования, основанные на применении экспериментальных моделей различных заболеваний, способны расширить очерченный выше список потенциальных областей применения этого типа клеток в качестве субстрата восстановительной и заместительной клеточной терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Государственный контракт № 16.512.11.2191) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 11-04-01581-ф).

## Список литературы

- Анисимов С. В. 2009. Клеточная терапия болезни Паркинсона. III. Применение неонатальных, фетальных и эмбриональных стволовых клеток. Успехи геронтологии. 22 (2) : 296—315.  
 Земелько В. И., Гринчук Т. М., Домнина А. П., Арцыбашева И. В., Зенин В. В., Кирсанов А. А., Бичевая Н. К., Корсак В. С., Никольский Н. Н. 2011. Мультипотентные мезенхим-

ные стволовые клетки десквамиированного эндометрия. Выделение, характеристика и использование в качестве фидерного слоя для культивирования эмбриональных стволовых линий человека. Цитология. 53 (12) : 919—929.

Кирсанов А. А., Земелько В. И., Гринчук Т. М., Арцыбашева И. В., Верлинский Ю., Корсак В. С., Никольский Н. Н. 2010. О возможности получения стволовых клеток из десквамиированного эндометрия. Пробл. репрод. 16 (3) : 28—29.

Мусина Р. А., Беляевский А. В., Тарусова О. В., Соловьева Е. В., Сухих Г. Т. 2008. Мезенхимальные стволовые клетки эндометрия, полученные из менструальной крови. Кл. техн. биол. мед. 2 : 110—114.

Allickson J., Xiang C. 2012. Human adult stem cells from menstrual blood and endometrial tissue. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 13 : 419—420.

Angle N. 2008. Regenerative medicine with endometrial regenerative cells for critical ischemia: limb salvage from the cradle of life? *Future Cardiol.* 4 : 547—540.

Bernardo M. E., Pagliara D., Locatelli F. 2012. Mesenchymal stromal cell therapy: a revolution in Regenerative Medicine? *Bone Marrow Transplant.* 47 : 164—171.

Bieback K., Klüter H. 2007. Mesenchymal stromal cells from umbilical cord blood. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2 : 310—323.

Borlongan C. V., Kaneko Y., Maki M., Yu S. J., Ali M., Allickson J. G., Sanberg C. D., Kuzmin-Nichols N., Sanberg P. R. 2010. Menstrual blood cells display stem cell-like phenotypic markers and exert neuroprotection following transplantation in experimental stroke. *Stem Cells Develop.* 19 : 439—452.

Castro R. F., Jackson K. A., Goodell M. A., Robertson C. S., Liu H., Shine H. D. 2002. Failure of bone marrow cells to transdifferentiate into neural cells *in vivo*. *Science*. 297 : 1299.

Cervelló I., Gil-Sanchis C., Mas A., Delgado-Rosas F., Martínez-Conejero J. A., Galán A., Martínez-Romero A., Martínez S., Navarro I., Ferro J., Horcajadas J. A., Esteban F. J., O'Connor J. E., Pellicer A., Simón C. 2010. Human endometrial side population cells exhibit genotypic and functional features of somatic stem cells. *PloS One*. 5 : e10964.

Cervelló I., Mas A., Gil-Sanchis C., Peris L., Faus A., Saunders P. T., Critchley H. O., Simón C. 2011. Reconstruction of endometrium from human endometrial side population cell lines. *PloS One*. 6 : e21221.

Challen G. A., Little M. 2006. A Side order of stem cells: the SP Phenotype. *Stem Cells*. 24 : 3—12.

Chan R. W., Schwab K. E., Gargett C. E. 2004. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. *Biol Reprod.* 70 : 1738—1750.

Cho N. H., Park Y. K., Kim Y. T., Yang H., Kim S. K. 2004. Lifetime expression of stem cell markers in the uterine endometrium. *Fertil. Steril.* 81 : 403—407.

Choi K. S., Shin J. S., Lee J. J., Kim Y. S., Kim S. B., Kim C. W. 2005. *In vitro* transdifferentiation of rat mesenchymal cells into insulin-producing cells by at pancreatic extract. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 20 ; 330 : 1299—1305.

Cui C. H., Uyama T., Miyado K., Terasi M., Kyo S., Kiyno T., Umezawa A. 2007. Menstrual blood-derived cells confer human dystrophin expression in the murine model of duchenne muscular dystrophy via cell fusion and myogenic transdifferentiation. *Mol. Biol. Cell*. 18 : 1586—1594.

Dimitrov R., Timeva T., Kyurkchiev D., Stamenova M., Shtrev A., Kostova P., Zlatkov V., Kehayov I., Kyurkchiev S. 2008. Characterization of clonogenic stromal cells isolated from human endometrium. *Reproduction*. 135 : 551—558.

Gang E. J., Bosnakovski D., Figueiredo C. A., Visser J. W., Perlingeiro R. C. 2007. SSEA-4 identifies mesenchymal stem cells from bone marrow. *Blood*. 109 : 1743—1751.

Gargett C. E. 2006. Identification and characterization of human endometrial stem/progenitor cells. *Aust. NZ J. Obstet. Gynaecol.* 46 : 250—253.

Gargett C. E., Healy D. L. 2011. Generating receptive endometrium in Asherman's syndrome. *J. Hum. Reprod. Sci.* 4 : 49—52.

Gargett C. E., Masuda H. 2010. Adult stem cells in the endometrium. *Mol. Hum. Reprod.* 16 : 818—834.

Gargett C. E., Schwab K. E., Zillwood R. M., Nguyen H. P., Wu D. 2009. Isolation and culture of epithelial progenitors and mesenchymal stem cells from human endometrium. *Biol. Reprod.* 80 : 1136—1145.

Goodell M. A., Brose K., Paradis G., Conner A. S., Mulligan R. C. 1996. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating *in vivo*. *J. Exp. Med.* 183 : 1797—1806.

Grove J. E., Bruscia E., Krause D. S. 2004. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cells*. 22 : 487—500.

Han X., Meng X., Yin Z., Rogers A., Zhong J., Rillema P., Jackson J. A., Ichim T. E., Minev B., Carrier E., Patel A. N., Murphy M. P., Min W. P., Riordan N. H. 2009. Inhibition of intracranial glioma growth by endometrial regenerative cells. *Cell Cycle*. 8 : 606—610.

Hida N., Nishiyama N., Miyoshi S., Kira S., Segawa K., Uyama T., Mori T., Miyado K., Ikegami Y. 2008. Novel cardiac precursor-like cells from human menstrual blood-derived mesenchymal cells. *Stem Cells*. 26 : 1695—1704.

Husein K. S., Thiemermann C. 2010. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status. *Stem Cells*. 28 : 585—596.

Kato K., Yoshimoto M., Kato K., Adachi S., Yamayoshi A., Arima T., Asanoma K., Kyo S., Nakahata T., Wake N. 2007. Characterization of side-population cells in human normal endometrium. *Hum. Reprod.* 22 : 1214—1223.

Kearns M., Lada P. K. 1982. Bone marrow origin of decidua-cell precursors in the pseudopregnant mouse uterus. *J. Exp. Med.* 155 : 1537—1554.

Kirk S., Frank J. A., Karlik S. 2004. Angiogenesis in multiple sclerosis: is it good, bad or an epiphenomenon? *J. Neurol. Sci.* 217 : 125—130.

Lin J., Xiang D., Zhang J. L., Allickson J., Xiang C. 2011. Plasticity of human menstrual blood stem cells derived from the endometrium. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 12 : 372—380.

Masuda H., Matsuzaki Y., Hiratsu E., Ono M., Nagashima T., Kajitani T., Arase T., Oda H., Uchida H., Asada H., Ito M., Yoshimura Y., Maruyama T., Okano H. 2010. Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration. *PloS ONE*. 5 : e10387.

Meng X., Ichim T. E., Zhong J., Rogers A., Yin Z., Jackson J., Wang H., Ge W., Bigin V., Chan K. W., Thébaud B., Riordan N. H. 2007. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J. Transl. Med.* 5 : 57—66.

Morelli S. S., Yi P., Goldsmith L. T. 2012. Endometrial stem cells and reproduction. *Obstet. Gynecol. Int.* 85 : 1367.

Murphy M. P., Wang H., Patel A. N., Kambhampati S., Angle N., Chan K., Marleau A. M., Pysznak A., Carrier E., Ichim T. E. et al. 2008. Allogenic endometrial regenerative cells: an ‘Off the shelf solution’ for critical limb ischemia? *J. Transl. Med.* 6 : 45—52.

Nagori C. B., Panchal S. Y., Patel H. 2011. Endometrial regeneration using autologous adult stem cells followed by conception by *in vitro* fertilization in a patient of severe Asherman’s syndrome. *J. Hum. Reprod. Sci.* 4 : 43—48.

Nakamizo A., Marini F., Amano T., Khan A., Studeny M., Guimin J., Chen J., Hentschel S., Vecil G., Dembinski J., Andreeff M., Lang F. F. 2005. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas. *Cancer Res.* 65 : 3307—3318.

Padykula H. A. 1991. Regeneration in the primate uterus: the role of stem cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 622 : 47—56.

Padykula H. A., Coles L. G., Okulicz W. C., Rapaport S. I., McCracken J. A., King N. W., jr., Longcope C., Kaiserman-Abra-mof I. R. 1989. The basalis of the primate endometrium: a bifunctional germinal compartment. *Biol. Reprod.* 40 : 681—690.

Parker A. M., Katz A. J. 2006. Adipose-derived stem cells for the regeneration of damaged tissues. *Exp. Opin. Biol. Ther.* 6 : 567—578.

Patel A. N., Park E., Kuzman M., Benetti F., Silva F. J., Allickson J. G. 2008. Multipotent menstrual blood stromal stem cells: isolation, characterization, and differentiation. *Cell Transplant.* 17 : 303—311.

- Patki S. M., Kadam S. S., Phadnis S. M., Bhonde R. R. 2008. Who is the culprit for post menopausal syndrome? Uterus/Ovary. Med. Hypotheses. 71 : 382—385.*
- Prianishnikov V. A. 1978. On the concept of stem cell and a model of functional morphological structure of the endometrium. Contraception. 18 : 213—223.*
- Roybon L., Ma Z., Asztely F., Fossum A., Jacobsen S. E., Brundin P., Li J. Y. 2006. Failure of transdifferentiation of adult hematopoietic stem cells into neurons. Stem Cells. 24 : 1594—1604.*
- Sato Y., Araki H., Kato J., Nakamura K., Kawano Y., Kobune M., Sato T., Miyanishi K., Takayama T., Takahashi M., Takimoto R., Iyama S., Matsunaga T., Ohtani S., Matsuura A., Hamada H., Niitsu Y. 2005. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion. Blood. 106 : 756—763.*
- Schwab K. E., Chan R. W., Gargett C. E. 2005. Putative stem cell activity of human endometrial epithelial and stromal cells during the menstrual cycle. Fertil. Steril. 84 (Suppl. 2) : 1124—1130.*
- Schwab K. E., Gargett C. E. 2007. Co-expression of two peri-vascular cell markers isolates mesenchymal stem-like cells from human endometrium. Human. Reprod. 22 : 2903—2911.*
- Taylor H. S. 2004. Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. JAMA. 292 : 81—85.*
- Toyoda M., Cui C., Umezawa A. 2007. Myogenic transdifferentiation of menstrual blood-derived cells. Acta Myol. 26 : 176—178.*
- Visser J. W., Rozemuller H., de Jong M. O., Belyavsky A. 1993. The expression of cytokine receptors by purified hemopoietic stem cells. Stem Cells. 11 : 49—55.*
- Wagers A. J., Sherwood R. I., Christensen J. L., Weissman I. L. 2002. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. Science. 297 : 2256—2259.*
- Wang S., Qu X., Zhao R. C. 2011. Mesenchymal stem cells hold promise for regenerative medicine. Front. Med. 5 : 372—378.*
- Wolff E. F., Gao X. B., Yao K. V., Andrews Z. B., Du H., Elsworth J. D., Taylor H. S. 2011. Endometrial stem cell transplantation restores dopamine production in a Parkinson's disease model. J. Cell. Mol. Med. 15 : 747—755.*
- Wolff E. F., Wolff A. B., Hongling Du., Taylor H. S. 2007. Demonstration of multipotent stem cells in the adult human endometrium by *in vitro* chondrogenesis. Reprod. Sci. 14 : 524—533.*
- Woodbury D., Schwarz E. J., Prockop D. J., Black I. B. 2000. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J. Neurosci. Res. 61 : 364—370.*
- Zhong Z., Patel A. N., Ichim T. E., Riordan N. H., Wang H., Min W. P., Woods E. J., Reid M., Mansilla E., Marin G. H., Drago H., Murphy M. P., Minev B. 2009. Feasibility investigation of allogeneic endometrial regenerative cells. J. Transl. Med. 7 : 15.*

Поступила 21 IX 2012

## MENSTRUAL BLOOD STEM CELLS AS A POTENTIAL SUBSTRATE OF CELL THERAPY

S. V. Anisimov,<sup>1,2</sup> V. I. Zemelko,<sup>1</sup> T. M. Grinchuk,<sup>1,2</sup> N. N. Nikolsky<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> V. A. Almazov Federal Center for Heart, Blood & Endocrinology, St. Petersburg, <sup>2</sup> Institute of Cytology RAS  
and <sup>3</sup> St. Petersburg State Polytechnical University;  
e-mail: askold5@hotmail.com

Cell replacement and restorative therapies have great perspectives in the treatment of various diseases and traumas. Various types of stem cells, most different in the biological properties, are evaluated as the potential substrates of cell therapy for such diseases. Mesenchymal stem cells (MSC) possess relatively high proliferative activity and high level of plasticity, and can be differentiated not only to the cells of the mesenchymal lineage, but also to the neurons. Among the MSC populations, a population of endometrial stem cells, including that present in the menstrual blood, is available most readily. In the current study, we analyze biological properties of the menstrual blood stem cells and evaluate those cells as a potential substrate of cell therapy.

**Key words:** cell therapy, endometrial stem cells, menstrual blood stem cells.