

УДК 57.085.23;616-03

ПУПОВИННАЯ КРОВЬ КАК ТРОФИКО-РОСТОВАЯ ДОБАВКА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ РАБОТ

© 2024 г. А. Г. Гончаров¹, В. В. Шуплецова¹, Н. Д. Газатова¹,
О. Б. Мелашенко¹, К. А. Юрова¹, Л. С. Литвинова^{1, 2, *}

¹Центр иммунологии и клеточных биотехнологий Балтийского федерального университета
им. И. Канта, Калининград, 236041, Россия

²Лаборатория клеточных и микрофлюидных технологий Сибирского государственного
медицинского университета, Томск, 634050, Россия

* E-mail: larisalitinova@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.09.2023 г.

После доработки 15.09.2023 г.

Принята к публикации 15.09.2023 г.

В обзоре проанализированы результаты современных высокотехнологичных исследований по применению сыворотки (плазмы) пуповинной крови в качестве добавки к культуральным средам для выращивания клеточных культур. Поскольку питательные среды являются ключевым фактором культивирования клеток, в обзоре рассматривается состав и свойства основных культуральных сред, применяемых в клеточной биологии и регенеративной медицине. Особое внимание авторы уделили факторам роста; описаны функциональные характеристики основных семейств этих полипептидов (факторы роста фибробластов, эпидермальные факторы роста, трансформирующие факторы роста, ростовые дифференцировочные, эпидермальные факторы роста, факторы роста эндотелиальных клеток, гемопоэтические ростовые факторы и др.). Отмечено, что одним из перспективных источников факторов роста является сыворотка (плазма) пуповинной крови. В обзоре приведены основные технологии получения пуповинной крови, а также систематизированы исследования, отражающие содержание ростовых факторов, цитокинов, экзосом и мРНК в пуповинной крови; описаны экспериментальные данные по применению сыворотки пуповинной крови в качестве добавки к культуральным средам для выращивания различных культур клеток животного происхождения. Сыворотка пуповинной крови человека, по сравнению с источниками животного происхождения, является доступным, безопасным продуктом, содержащим высокие уровни биологически активных молекул. Для широкого внедрения ее в качестве добавки к культуральным средам необходима разработка стандартов получения и тестирования этого продукта.

Ключевые слова: пуповинная кровь, сыворотка/плазма, пуповинная кровь, среда для культивирования, животная клетка, фактор роста, цитокин, экзосома, мРНК, культивирование, животная клетка

Принятые сокращения: МСК – мезенхимные стволовые клетки; ПК – пуповинная кровь человека; ФБС – фетальная бычья сыворотка.

DOI: 10.31857/S0041377124020019, **EDN:** RKMSZJ

Развитие регенеративной медицины предполагает широкое применение одного из основных ее инструментов, а именно клеточных культур различного типа и генеза (de Kinderen et al., 2022; Hassanzadeh et al., 2022; Ríos-Galacho et al., 2022). К клеточным культурам, используемым как в медицинских, так и в научных (экспериментальных) целях, предъявляется ряд требований, которые включают в себя как минимум следующие показатели: высокая степень гомогенности, жизнеспособность, функциональная активность, воспроизводимость. Важной характеристикой культур клеток является “клеточность” – количество жизнеспособных клеток в единице объема.

Среди факторов, оказывающих влияние на этот параметр, помимо метода получения первичной культуры, соблюдения правил асептики и анти-септики и др., важнейшими являются характеристики используемой питательной среды (Price, 2017; Трухан, 2018; Zimmerman et al., 2000).

От состава питательной среды, наличия в ней ростовых факторов зависит метаболизм клетки, ее рост и дифференцировка в том или ином направлении. Источником ростовых факторов могут быть как рекомбинантные белки, полученные, например, на культурах *E. coli* и дрожжевых клеток, высоко очищенные факторы роста, выделяемые из сывороток различного

происхождения, и, наконец, донорская плазма, эмбриональная телячья сыворотка и сыворотка крупного рогатого скота, добавляемые в культуральные среды как источник белка и факторов роста. Альтернативным источником таких добавок в последние годы все чаще рассматривается плазма (сыворотка), получаемая из пуповинной крови человека (ПК).

Цель настоящего обзора – критический анализ современного опыта применения компонентов ПК человека в клеточных культуральных работах и оценка перспектив использования этого сырья для развития (нужд) регенеративной медицины.

СОВРЕМЕННЫЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СРЕДЫ

В настоящее время для оптимального выращивания клеточных культур как в терапевтических, так и в экспериментальных целях на рынке биомедицинских товаров предлагается достаточно широкий выбор коммерческих сред, среди которых можно выделить естественные и синтетические среды. К первым относят различные биологические жидкости, такие как плазма, сыворотка, лимфа, амниотическая жидкость и др. Несмотря на то, что с биологической точки зрения они являются наиболее полноценными (содержат все компоненты для роста и пролиферации клеток), они не нашли широкого применения в биомедицине из-за значительного разброса составляющих ингредиентов, что отражается на качественных и количественных показателях конечного клеточного продукта. Помимо этого, применение таких сред существенно увеличивает риск вирусной или микробной контаминации клеточной культуры. Наибольшее применение нашли синтетические (искусственные) среды, созданные на основе буферных систем. Можно выделить среды, содержащие сыворотку человека или животного и бессывороточные. Последние, особенно безбелковые, с одной стороны, легко стандартизируются, с другой – легко могут быть модифицированы в зависимости от цели исследования с помощью добавок необходимых компонентов (Price, 2017; Трухан, 2018). В зависимости от типа клеток и цели культивирования, такими компонентами являются:

- соли (обеспечение ионами натрия, калия, кальция, поддержание осмолярности);
- заменимые и незаменимые аминокислоты (как исходный материал для синтеза белков);

- углеводы (глюкоза, фруктоза и галактоза в качестве источника энергии);
- белки и пептиды (выполняющие транспортные и адгезивные функции);
- жиры и жирные кислоты (выполняющие энергетическую и пластическую функции);
- витамины (обеспечивающие процессы роста и пролиферации клеток);
- антибиотики и антимикотики (для профилактики бактериальной и грибковой контаминации);
- гормоны и факторы роста (для усиления процессов роста, пролиферации, дифференцировки клеток, их активации).

Ассортимент культуральных сред постоянно обновляется. Тем не менее на рынке присутствуют хорошо зарекомендовавшие себя питательные среды, широко применяемые в научных и производственных работах (Baust et al., 2017). Примером может послужить среда MEM (minimum essential medium) и серия ее модификаций DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium), IMDM (Iscove's modified Dulbecco's medium), используемые для культивирования различных типов клеток, в том числе эмбриональных и гибридов (Зорин и др., 2014); RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute), среды F-12 и F-10, применяемые для основного спектра клеточных культур. Для отмывания клеточных культур и в качестве базовых оснований для приготовления питательных сред при культивировании животных клеток часто используют растворы Хэнкса (Hanks' balanced salt), Эрла (Earle's balanced salts) (Колокольцева и др., 2016; Phelan, May, 2017) и др.

В настоящее время появляются новые типы сред без добавления сыворотки или с понижением ее концентрации. Они предназначены для роста и пролиферации конкретных клеточных типов (гибридомные, нейрональные, стволовые, эмбриональные, iPSc) или их дифференцировки (остео-, хондро-, адиподифференцировки). Такие среды, как правило, содержат два компонента: базовую среду и комплекс ростовых и (или) дифференцировочных компонентов, добавляемых непосредственно перед проведением культуральных работ (StemPro hESC SFM, StemPro MSC SFM XenoFree, NutriStem® hPSC XF Culture Media, NutriStem® hPSC GF-free) (Зорин и др., 2014). Выбор культуральной среды определяется целями и задачами исследования, а грамотный подбор добавочных компонентов позволяет получить культуру клеток высокого качества (Трухан, 2018).

ФАКТОРЫ РОСТА И ИХ ИСТОЧНИКИ

Факторы роста – это разнообразные и многочисленные полипептиды, объединенные, как правило, в специфические семейства. Их функции осуществляются по эндокринным, паракринным и аутокринным механизмам. В организме они могут играть роль митогенов, хемоаттрактантов, регуляторов миграции и дифференцировки, выступают в качестве сигнальных молекул и регуляторов нормального и патологического неоангиогенеза. Данные полипептиды могут быть как естественного (донорская плазма крови, тромболитат, сыворотка пуповинной крови, фетальная сыворотка животных) (Vlaski-Lafarge et al., 2020; Widyaningrum et al., 2021; Custo et al., 2022; Li et al., 2022; Lopez et al., 2022), так и искусственного происхождения, полученные в биотехнологических процессах с использованием клеточных линий и рекомбинантных микроорганизмов, например бактерий *Escherichia coli* или дрожжей (Belladonna, Grohmann, 2013; Hessefort et al., 2021; Zhou et al., 2021; Balaban et al., 2022).

Ростовые факторы могут использоваться как самостоятельные фармакологические препараты (Zhang et al., 2018; Sousa et al., 2021; Nandi et al., 2022), а также как дополнительные компоненты питательных сред при наращивании клеток в научных, доклинических исследованиях и при производстве клеточных препаратов для клинического применения. Часть этих факторов оказывает влияние на рост и дифференцировку нескольких типов клеток, другая специфично влияет на единичные клеточные линии. Иногда один тип клеток может быть простимулирован разными ростовыми факторами. К ростовым факторам в настоящее время относят более сотни полипептидных биоактивных молекул. Некоторые из них применимы в клеточном культивировании для поддержания пролиферативной активности и сохранения морфофункционального статуса клеток в культуре.

Семейство факторов роста фибробластов (FGF) насчитывает более 20 членов и помимо фибробластов контролируют пролиферацию и дифференцировку многих других клеток, а также принимают участие в процессах ангиогенеза. В клеточных технологиях применима чаще всего основная изоформа этого семейства bFGF. Ряд его представителей играют значимую роль в неоангиогенезе опухолевых процессов и имеют прогностическое значение (Ornitz, Itoh, 2015; Jing et al., 2016; Markan, Potthoff, 2016; Farooq et al., 2021; Sun C. et al., 2022). Фактор KGF (FGF7) специ-

фичен для эпителиальных клеток, его митогенная активность преимущественно проявляется в кератиноцитах. Он важен в морфогенезе эпителия, реэпителизации ран, развитии волос и легких, на стадии раннего органогенеза. В ряде клинических испытаний показана его эффективность в терапии поражений эпителия (Yen et al., 2014; Sadeghi et al., 2021; Bartolo et al., 2022; Shimizu et al., 2022).

Надсемейство эпидермальных факторов роста (EGF) рассматривается отдельно в специальной литературе. Его первый представитель фактор EGF стимулирует рост и пролиферацию эпителиальных, глиальных клеток, фибробластов, является активным участником эмбриогенеза (Pikula et al., 2015; Richani, Gilchrist, 2018; Liu et al., 2022). Близко связан с ним фактор HB-EFG – гепаринсвязывающий белок, участвующий в процессах пролиферации и миграции клеток эпителиального покрова (Taylor et al., 2014; Kuo et al., 2019; Anderegg et al., 2021; Li et al., 2021).

Трансформирующие факторы роста (TGF) – большое суперсемейство, включающее около 40 членов. Его представители TGF- α , TGF- β – многофункциональные цитокины, играющие ключевую роль в регуляции роста, дифференцировки и метаболизма различных типов клеток в норме и при различных патологиях (Dewidar et al., 2019; Tominaga, Suzuki, 2019; Yamada et al., 2019; Muscella et al., 2020; Ishibashi, Isohama, 2021; Sulaiman et al., 2021).

Ростовые дифференцировочные факторы (GDF) оказывают регуляторное и протекторное действие на клетки многих органов и тканей (гепатопротекторы, кардиопротекторы, нейропротекторы, хондропротекторы), могут являться биомаркерами развития ряда патологий (Stavropoulos, Wikesjo, 2012; Абишева и др., 2017; Hodgkinson et al., 2019; Rochette et al., 2020).

Фактор миостатин оказывает широкое регуляторное действие на клетки мышечных тканей (Baig et al., 2022; Esposito et al., 2022; Venugopal et al., 2022).

Значимыми и активно изучаемыми представителями надсемейства EGF также являются амфирегулин (AR), бетацеллюлин (BTC), нейрегулины (NRG), эпирегулин (EPR), эпиген, являющиеся лигандами и факторами-предшественниками при запуске каскада действия комплекса ростовых факторов в процессе физиологической и репаративной регенерации (Berasain, Avila et al., 2014; Zaiss et al., 2015; Huang et al., 2020; Diaz-Saez et al., 2021; Laplace-Builhe et al., 2021; Lees-Shepard

et al., 2021; Wang et al., 2021; Dong et al., 2022; Singh et al., 2022).

Факторы группы роста BMP первоначально открыты благодаря их способности воздействовать на формирование кости и хряща. Сейчас показано, что белки BMP — одна из основных групп морфогенетических сигнальных белков, которые организуют построение тканей в теле и имеют прогностическое значение (Chung et al., 2018; Lowery, Rosen, 2018; Heubel, Nohe, 2021; Ponomarev et al., 2021; Yan, Wang et al., 2021).

Факторы роста эндотелиальных клеток — ECGF, митогенный фактор роста эндотелиальных клеток сосудов, влияет на функциональную активность моноцитов/макрофагов, стимулирует нейрогенез. Представители семейства ECGF1 и ECGF2 идентичны кислоте (FGF1) и основному (FGF2) фактору роста фибробластов (Drouin et al., 2013; Chen et al., 2020; Marei et al., 2022).

Факторы роста эндотелия сосудов (VEGF) — отдельное семейство факторов, синергичных ECGF и FGF. Отдельные представители семейства являются непосредственными регуляторами ангиогенеза, другие выступают предшественниками других ростовых факторов (bFGF, PDGF), тем самым, опосредовано участвуя в пролиферации эндотелиальных клеток (Lee et al., 2021; Sousa et al., 2021; Eguchi et al., 2022).

Инсулиноподобные факторы роста (IGF), ингибируя протеинкиназу B, тормозят развитие апоптоза и стимулируют рост и пролиферацию различных клеток (Al-Samerri, Radovick, 2021; Lin et al., 2021).

Фактор роста нервной ткани (NGF) усиливает рост и пролиферацию нейронов и поддерживает рост β -клеток поджелудочной железы (Ibrahim et al., 2022; Oo, Hunter, 2021; Reis et al., 2022; Ostrovskaaya, Ivanov, 2022).

Факторы роста тромбоцитов (PDGF) — группа полипептидов, включающая пять изоформ. Являясь митогенами для клеток мезенхимного происхождения, играют важную роль в выживании и регенерации фибробластов, остеобластов, гладкомышечных и глиальных клеток (Wang et al., 2016; Kazlauskas, 2017; Gillman et al., 2021; Sun J., et al., 2022).

Гемопоэтические ростовые факторы представляют собой группу полипептидов, регулирующих пролиферацию, дифференцировку и миграцию клеток крови, в том числе и иммунокомпетентных клеток. К этим факторам можно отнести моноцитарно-гранулоцитарные факторы роста:

M-CSF (CSF1), G-CSF (CSF3), GM-CSF — регуляторы гранулоцитарного звена лейкоцитов, а также стромальных тканевых предшественников, таких как МСК. EPO — регулятор митогенеза и дифференцировки предшественников эритроцитарного ряда; TPO (TPO, MGDF) — стимулятор и регулятор тромбоцитопоэза; SCF (KL) — фактор роста стволовых клеток, стимулирующий не премированные гемопоэтические клетки и их комитированные предшественники (Dougan et al., 2019; Kim et al., 2020; Mun et al., 2020; Nakamura-Ishizu, Suda, 2020).

С учетом того, что ряд ростовых факторов участвует в процессе канцерогенеза, их применение в клинике и при производстве биомедицинских клеточных продуктов требует продуманной стратегии и расчета концентраций (Taeger et al., 2011; Франциянц и др., 2020; Derynck et al., 2021). Однако альтернативой применения единичных изолированных и/или синтезированных ростовых факторов могут стать природные источники регуляторов метаболизма, дифференцировки и пролиферации. Основными источниками дополнительных компонентов для питательных сред в настоящее время являются лошадиная сыворотка, сыворотка крупного рогатого скота, телячья эмбриональная (фетальная) сыворотка. В специальной литературе описано применение лизата донорской тромбоцитарной массы (Schär et al., 2015; Noh et al., 2018; Ziegler et al., 2019; Imam et al., 2022). Использование сыворотки (плазмы) пуповинной крови также считается перспективным источником дополнительных компонентов в составе культуральных сред (Гончаров и др., 2021).

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПУПОВИННОЙ КРОВИ

Применение пуповинной крови в качестве донорской было начато в Советском Союзе еще в начале 30-х годов прошлого столетия. Были разработаны нормативные документы, регламентирующие организацию, сбор, хранение и использование этого ценного продукта для переливания крови. Однако в послевоенные годы с развитием службы крови такая практика не получила развития. В настоящее время заготовка пуповинной крови выполняется в ряде родовспомогательных учреждений, в первую очередь для получения гемопоэтических стволовых клеток для последующей трансплантации ее пациентам со злокачественными заболеваниями крови. Плазма (сыворотка) пу-

повинной крови остается пока невостребованным продуктом.

В РФ зарегистрировано несколько банков пуповинной крови, объединенных в Ассоциацию “Рускорд” (<https://ruscord.com>), основной целью которой является содействие развитию надлежащей клинической и лабораторной практики на всех этапах работы с пуповинной кровью. В настоящее время есть ряд законодательных актов, напрямую и косвенно регламентирующих заготовку продуктов, получаемых из пуповинной крови: Федеральный закон “О донорстве крови и ее компонентов” от 20.07.2012 № 125-ФЗ; Национальные стандарты РФ ГОСТ Р 52938-2008 “Кровь донорская и ее компоненты. Контейнеры с консервированной кровью или ее компонентами. Маркировка”, ГОСТ Р 53434-2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)”.

Взятие пуповинной крови в родильном доме включает в себя несколько этапов. Предварительно, как и в любой процедуре забора биологического материала, исследователю необходимо заручиться одобрением локального этического комитета, подготовить информационный листок для пациента, получить информированное согласие на получение образца пуповинной крови у матери будущего ребенка. По действующему законодательству именно она является в данном случае донором (Национальный стандарт РФ ГОСТ Р ИСО 13022–2016 “Продукты медицинские, содержащие жизнеспособные человеческие клетки. Применение менеджмента риска и требований к методикам обработки”).

Кровь забирают из пуповинной вены сразу после отсечения пуповины в гематологический контейнер. Объем получаемой крови может составлять от 30 до 80 мл. Описанная манипуляция безболезненна, безопасна для матери и ребенка. Риск бактериального заражения пуповинной крови минимален и обеспечивается соблюдением стандартных операционных процедур. Примером таких детализированных поэтапных процедур могут быть разработанные О.В. Тюминой с соавторами (2012) процедуры заготовки пуповинной крови. Применение автоматического или дискретного плазмафереза, хорошо зарекомендовавшего себя на станциях переливания крови, для получения плазмы из ПК ввиду небольших ее объемов не оптимально.

Фракционирование крови объемом до 80 мл наиболее удобно проводить центрифугированием (Белобородов, Кельчевская, 2020). Вопрос

о преимуществах того или иного вида антикоагулянтов, например на основе цитрата натрия, которые широко используются службой крови, остается открытым. Требуется дополнительно изучить влияние разных антикоагулянтов на уровень и активность факторов роста, присутствующих в плазме ПК. Для получения сыворотки, в которой, по мнению ряда исследователей, концентрация цитокинов выше по сравнению с плазмой ПК, возможно применение гемоконтейнеров (стерильных шприцев) без добавок антикоагулянтов и гемоконсервантов.

Содержание ростовых факторов, цитокинов, экзосом и мРНК в пуповинной крови. Получаемая из ПК сыворотка (плазма) в последние годы рассматривается как перспективный источник компонентов для проведения культуральных работ. В плазме пуповинной крови выявляется значительное количество цитокинов: IL-1 β , IL-6, IL-1 α , IL-4, IL-10, IL-13, IL-2, IL-7, IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α , IL-5, IL-9, IL-15, G-CSF, GM-CSF, PDGF-bb, FGF-2, VEGF, IL-8, эотаксин, MCP-1, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b, RANTES, 6Cine, BCA-1, STACK, ENA-78, эотаксин 2 и 3, фракталкин, GCP, Gro- α , Gro- β , I-309, I-TAC, MCP-2, MCP-3, MCP-4, MDC, MIF, MIG, MIP-3a, MIP3-b, MPIF-1, SCYB16, SDF-1ab, TARC, TERC (Garanina et al., 2017; Sane et al., 2018).

Среди преимуществ этого биологического продукта можно отметить его доступность, наличие в составе практически всех факторов для роста и дифференцировки тканей, отсутствие ксеногенных компонентов. Содержание в ПК (сыворотке) цитокинов (в том числе ростовых факторов) в значительной степени лабильно (Garanina et al., 2017).

В ряде публикаций отмечено, что в плазме ПК, по сравнению с донорской плазмой, на фоне относительно повышенных уровней хемокина IL-8 и ряда факторов роста (M-CSF, HGF, PDGF-BB, SCGF- β , IL-8 и SCF, VEGF, G-CSF, EGF, FGF) регистрируются более низкие концентрации провоспалительных цитокинов (Романов, Романов, 2018; Ehrhart et al., 2018; Romanov et al., 2019). Отмечается также, что плазма ПК содержит более высокие концентрации основных ростовых факторов TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 2, TGF- β 3, EGF, HGF, PDGF-BB, VEGF-A и D, чем донорская (Rhéaume et al., 2021).

В то же время плазма и сыворотка ПК содержит более низкие концентрации IGF-I и II (Rhéaume et al., 2022). Важно отметить, что авторы подчеркивают более высокую “функциональность”

сыворотки/плазмы ПК по сравнению с фетальной бычьей сывороткой при культивировании клеточных линий. Кроме того, исследователи отмечают, что при использовании в качестве культуральной добавки эмбриональной бычьей сыворотки (в отличие от плазмы ПК) мезенхимальные стромальные клетки в большей степени экспрессировали маркеры, характерные для остеогенной активности, что является признаком нежелательной дифференцировки (Rallapalli et al., 2021).

В плазме ПК регистрируются достаточно высокий уровень глюкозы и более низкое содержание глутамата, лактата, а также аминокислот аланина, лейцина, изолейцина и валина. По содержанию протеиногенных аминокислот, нуклеотидов, липидов плазма ПК соответствует широко применяемой в культуральных работах фетальной телячьей сыворотке. Использование плазмы ПК для культивирования клеток пульпы зуба показало улучшение метаболических характеристик клеточной линии по сравнению с применением телячьей эмбриональной сыворотки (Caseiro et al., 2018; Rhéaume et al., 2022).

Как правило, концентрация биологически активных молекул в сыворотке ПК выше по сравнению с плазмой ПК (Caseiro et al., 2018; Romanov et al., 2019). В целом можно отметить, что концентрации цитокинов в плазме (сыворотке) ПК превышают таковые в донорской плазме и в эмбриональной телячьей сыворотке, однако уровень некоторых компонентов достаточно вариабелен. Подчеркивается, что индивидуальные особенности донора ПК, такие как возраст, число родов, наличие воспалительного заболевания, срок беременности, способ родоразрешения, оказывают существенное влияние на состав пуповинной крови. Важно отметить, что это касается не только содержания в ПК гемопоэтических стволовых клеток, но и ряда биологически активных молекул (D'Arena et al., 1996; Campagnoli et al., 2000; Pranke et al., 2006; Dauber et al., 2011; Танасийчук и др., 2017).

Например, описан более низкий уровень IL-6 в ПК при родоразрешении посредством планового кесарева сечения, чем при нормальных родах, тогда как содержание IL-8, IL-16 сопоставимо (Denihan et al., 2013; Varug et al., 2014). Другие авторы выявили более высокое содержание IL-1 β в ПК у рожениц, которым было проведено экстренное кесарево сечение, чем у женщин, у которых были нормальные роды или плановое кесарево сечение (Gedikbaşı et al., 2014). Описано влияние времени года рождения ребенка на со-

держание IL-5, IL-10 и IFN- γ в ПК: наибольшие уровни этих цитокинов отмечали в осенний период (Keski-Nisula et al., 2010). У рожениц с воспалительными заболеваниями описан повышенный уровень провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF-альфа и др.) не только в материнской крови, но и в ПК (Pickler et al., 2010; Che et al., 2022).

Особый интерес вызывают данные о содержании ангиопоэтических факторов и микроРНК в ПК, полученной от доношенных и недоношенных детей. Описано, что проангиогенные факторы, такие как VEGF, ангиопоэтин-1, PDGF-AA, FGF-a и FGF-b (в отличие от эндостатина и тромбоспондина-2) были в более низкой концентрации в ПК, собранной у недоношенных новорожденных, чем у доношенных детей. Кроме того, у недоношенных новорожденных была существенно снижена экспрессия участвующих в ангиогенезе микроРНК (MiR-125, MiR-126, MiR-145, MiR-150) (Gródecka-Szwajkiewicz et al., 2020).

Наличие в сыворотке ПК микроРНК, широкого спектра цитокинов, биологические эффекты этих продуктов в свою очередь свидетельствует о присутствии в этих средах важнейшего компонента пуповинной крови – микровезикул (экзосом). Экзосомы, являющиеся членами семейства внеклеточных везикул, происходят из различных клеток и играют существенную роль в регуляции гомеостаза, обеспечивая межклеточные коммуникации (Meldolesi, 2018; Skuratovskaia, 2021). Биологические эффекты экзосом определяются их содержанием, зависящим от клетки-родительницы, в первую очередь – от гемопоэтических клеток ПК. Микровезикулы содержат белки (в том числе белки комплекса МНС (стресс-белки)), липиды, регуляторные микроРНК и кодирующие матричные РНК. Из внеклеточной среды функциональные молекулы экзосом путем фагоцитоза, эндоцитоза или слияния с плазматической мембраной попадают в клетку-мишень, модулируют экспрессию генов, меняя метаболизм клетки, активируя процессы регенерации и восстановления (Yáñez-Mó et al., 2015; Terashvili, Bosnjak, 2018; Pietrowska et al., 2019). Внесение малых внеклеточных везикул в высоких концентрациях в различные клеточные культуры, а также их внутривенное введение грызунам продемонстрировало, что они не обладают высокой токсичностью (Rodrigues et al., 2021).

В литературе нам не удалось найти сведений, отражающих содержание экзосом в плазме/сыворотке ПК, что, по-видимому, связано с гете-

рогенностью их размеров и состава (Jeppesen et al., 2019). О количестве экзосом в биологической жидкости можно судить по количеству микро-РНК, однако их определение затруднено присутствием альбуминов (Pietrowska et al., 2019). Оценка количества микровезикул существенно зависит от метода их выделения (ультрацентрифугирование, ультрафильтрация в сочетании с эксклюзионной хроматографией, фракционирование на градиенте плотности, применение набора реагентов ExoQuick или реагента для полной изоляции экзосом (TEI)) (Tang et al., 2017; Jeppesen et al., 2019; Cardoso et al., 2021). По-видимому, содержание экзосом в ПК, как и содержание цитокинов, их спектр, варьирует в достаточно широком диапазоне и зависит от множества факторов, начиная от течения беременности и заканчивая родами.

Важно отметить, что содержание факторов роста в разных продуктах получаемых из ПК (плазма, сыворотка, индуцированная сыворотка и плазма, обогащенная фактором роста), различаются по концентрации ростовых пептидов, что позволяет в перспективе целенаправленно создавать добавки с разными свойствами (Rhéaume et al., 2022; Rhéaume et al., 2022). В связи со сказанным ранее вопросы стандартизации получения ПК и, соответственно, плазмы ПК имеют принципиальное значение.

Как уже упоминалось, для получения плазмы ПК авторы использовали разные методологические подходы: подбор доноров, анализ их анамнеза, методику забора ПК, различные по составу антикоагулянты и режимы центрифугирования. По-видимому, потребуется значительная работа по унификации подходов к процедуре забора ПК и получения из нее конечных продуктов, выбора одного или нескольких основных компонентов, которые позволяли бы судить о составе продукта. Возможным подходом к стандартизации состава добавки из плазмы ПК, вероятно, может стать технология пулирования образцов от нескольких доноров, что позволит усреднить концентрацию цитокинов и других компонентов.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СЫВОРОТКИ/ ПЛАЗМЫ ПК В КУЛЬТУРАЛЬНЫХ РАБОТАХ

Клеточные линии, на основе которых получают биомедицинские клеточные продукты, должны быть в первую очередь безопасны. С этой точки зрения применение ПК для культивирования клеток, по сравнению с сывороткой крупного

рогатого скота, более оптимально, поскольку оно снижает риск заражения вирусами, прионами, бактериями, микоплазмами, дрожжами, грибами и эндотоксинами (Simonetti et al., 2007; Pereira et al., 2014; Dessels et al., 2016; Bui et al., 2021).

Важны вопросы экономической целесообразности применения продуктов ПК в культуральных работах и их эффективности с точки зрения характеристик (качества) получаемых клеточных культур. К настоящему времени накоплен достаточно большой опыт применения плазмы и сыворотки, полученной из ПК для получения первичных культур и культивирования самых разнообразных клеточных линий (различных типов мезенхимных стволовых клеток, клеток нервной ткани, эндотелиальных клеток и др.).

Описаны положительные эффекты добавления в культуральную среду сыворотки и плазмы ПК в технологиях масштабирования как стволовых гемопоэтических клеток CD34⁺, так и МСК, полученных из других источников (Esmaeli et al., 2016; Hassan et al., 2017; Caseiro et al., 2018; Pour et al., 2020; Rallapalli et al., 2021; Afzal et al., 2023). Эти компоненты добавляли в культуральную среду, не содержащую сыворотки животных, как источник ростовых факторов для поддержания роста и дифференцировки клеток (Kwok et al., 2007; Murphy et al., 2012; Wu et al., 2015; Blázquez-Prunera et al., 2017; Pour et al., 2020; Rallapalli et al., 2021). Использование продуктов ПК позволило существенно сократить время удвоения популяции МСК (от 30 до 48 ч) по сравнению с культурой клеток с добавкой ФБС (от 38 до 95 ч), что способствовало увеличению количества клеток, пригодных для клинического применения за наименьшее количество пассажей.

Культуры МСК, полученные с добавками продуктов из ПК, сохраняли свою морфологию и способность дифференцироваться в адипоциты и остециты, экспрессия поверхностных маркеров CD90, CD105 и CD44 была значительно выше по сравнению с культурами, в которые добавляли ФБС (Hassan et al., 2017). Подобные результаты описаны в работе, в которой культивирование МСК в среде, содержащей 5–10% пуповинной сыворотки, способствовало десятикратному увеличению популяции клеток, тогда как использование коммерческой ФБС демонстрировало показатели в два раза ниже (Afzal et al., 2023).

В литературе описано применение в культуральных работах сыворотки ПК в сочетании с кондиционированной средой или в комбина-

ции с лизатом тромбоцитов. Кондиционированная среда, полученная при культивировании МСК, существенно повышала скорость их пролиферации и миграции МСК и стромальных клеток костного мозга. Кондиционированная среда индуцировала секрецию VEGF-A и остеопротегерина, что способствовало ангиогенезу эндотелиальных клеток и положительно влияло на остеогенную дифференцировку МСК (Sane et al., 2018).

Применение плазмы ПК, обогащенной лизатом тромбоцитов ПК, в качестве ростовой добавки для культивирования МСК пуповины направляло и поддерживало остеобластическую дифференцировку этих клеток (Baba et al., 2019). В пользу применения плазмы ПК также говорят и результаты сравнительной оценки влияния ФБС и сыворотки ПК, полученной с использованием гидроксипропилкрахмала, на основные характеристики МСК пуповины (Pour et al., 2020). Показано, что экспрессия гена *hTERT*, являющегося ключевым в поддержании стабильности генетического аппарата клетки в процессе ее многократного деления, была выше, чем при использовании ФБС (Pour et al., 2020).

При использовании плазмы ПК для культивирования клеток пульпы зуба отмечали улучшение метаболических характеристик клеточной линии по сравнению с телячьей эмбриональной сывороткой (Caseiro et al., 2018).

Для культивирования стромальных клеток эндометрия были протестированы различные варианты сывороток, в том числе плазма, полученная из ПК, и плазма крови взрослого человека (de Miguel-Gómez, 2021). В результате наибольшее увеличение пролиферации *in vitro* и скорости миграции было обнаружено в той модели, где использовали плазму ПК. Так же и в эксперименте *in vivo* на мышах поврежденная ткань матки экспрессировала больше прорегенеративных маркеров (*Stat5a*, *Uba3*, *Thy1*) после применения плазмы ПК, чем после обогащенной тромбоцитами плазмы крови взрослого донора (de Miguel-Gómez et al., 2021).

Сравнительная оценка жизнеспособности мезенхимных клеток ПК, культивированных в полной питательной среде, содержащей или пуповинную плазму, или плазму взрослого донора, или эмбриональную бычью сыворотку, продемонстрировала высокую долю жизнеспособных клеток при культивировании в присутствии именно плазмы взрослого человека. Интересно, что в культуре с использованием плазмы ПК было

зафиксировано значительно большее соотношение живых клеток к мертвым, а количество апоптотических клеток было наименьшим, нежели в других вариантах культуры (Ehrhart et al., 2018).

Есть сообщение об успешном использовании сыворотки ПК человека вместо фетальной бычьей для культуры *ex vivo* лимбальных эпителиальных клеток, используемых для клинической трансплантации (Chakraborty et al., 2013). При этом результаты сравнительного анализа морфологии клеток и их пролиферативной активности оказались аналогичными при использовании фетальной бычьей сыворотки и сыворотки ПК.

Сыворотка, полученная из ПК человека, была успешно протестирована на культуре клеток фибробластов. Так, помимо высокой скорости пролиферации, линии фибробластов сохраняли плюрипотентность и кариотипическую стабильность в процессе длительного культивирования (Rungsiwut et al., 2016). В другой работе авторы не отметили преимуществ плазмы ПК перед стандартно применяемой ФБС при культивировании МСК (Ding et al., 2013).

В целом публикации о применении плазмы/сыворотки ПК при культивировании клеток свидетельствуют о ее существенных преимуществах: доступности, относительной безопасности для культивирования (пролиферации) и последующего клинического применения МСК (Pour et al., 2020). Кроме того, криоконсервация ПК не влияет на ее свойства (Baba et al., 2019).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для развития регенеративной медицины принципиальное значение имеет получение жизнеспособных культур клеток с заданными свойствами и в количестве, способном обеспечить терапевтический эффект. Необходимым условием для этого является разработка оптимальных методов культивирования, в которых важнейшим компонентом выступают ростовые факторы. Плазма/сыворотка, полученная из пуповинной крови человека, в сравнении с источниками животного происхождения выступает уникальным продуктом, обладающим рядом ценных характеристик – безопасностью, более высоким содержанием биологически активных молекул, что открывает широкие перспективы для их применения в области клеточных технологий. Мы считаем, что, несмотря на необходимость уточнения состава сыворотки ПК и механизма действия, созрели условия для широкого внедрения

этих продуктов в практику. Ключевыми преимуществами использования пуповинной сыворотки является то, что ее можно легко и массово получить из ПК. Она не содержит патогенов животного происхождения и имеет значительно более низкую иммуногенность. Безусловно, необходимо усовершенствовать и стандартизировать методы получения и тестирования плазмы/сыворотки ПК, разработать протоколы применения этого продукта для различных клеточных линий. Немаловажной в настоящее время характеристикой плазмы/сыворотки ПК является ее доступность и относительно невысокие затраты на ее получение.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа профинансирована за счет средств бюджета Балтийского федерального университета им. И. Канта (госзадание № FZWM-2024-0012).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абишева З.С., Журунова М.С., Жетписбаева Г.Д. 2017. Влияние белка GDF11 (growth differentiation factor-11) на организм (обзорная статья). Вестник КазНМУ. Т. 2. Р. 227. (Abisheva Z.S., Zhurunova M.S., Zhetpishaeva G.D. 2017. The effect of GDF11 protein (growth differentiation factor-11) on the body (review article). Bulletin of KazNMU. V. 2. P. 227).
- Белобородов В.А., Кельчевская Е.А. 2020. Переливание крови и ее компонентов: учеб. пособие. ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Иркутск: ИГМУ. 87 с. (Beloborodov V.A., Kelchevskaya E.A. 2020. Transfusion of blood and its components: textbook. allowance. FGBOU VO ISMU of the Ministry of Health of Russia, Irkutsk: ISMU. 87 p.)
- Гончаров А.Г., Юрова К.А., Шуплецова В.В., Газатова Н.Д., Мелащенко О.Б., Литвинова Л.С. 2021. Характеристика пуповинной крови и ее использование в клинической практике. Цитология. Т. 63. № 5. С. 411. (Goncharov A.G., Yurova K.A., Shupletsova V.V., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Litvinova L.S. 2021. Characterization of cord blood and its use in clinical practice. Tsitologiya. V. 63. P. 411). <https://doi.org/10.31857/S0041377121050059>
- Зорин В.Л., Копнин П.Б., Зорина А.И., Еремин И.И., Лазарева Н.Л., Чаузова Т.С., Самчук Д.П., Петрикина А.П., Еремин П.С., Корсаков И.Н., Гринаковская О.С., Котенко К.В., Пулин А.А. 2014. Оптимизация условий получения и ведения культур фибробластов кожи и десны человека. Гены & Клетки. Т. IX. № 2. С. 53. (Zorin V.L., Koptin P.B., Zorina A.I., Eremin I.I., Lazareva N.L., Chauzova T.S., Samchuk D.P., Petrikina A.P., Eremin P.S., Korsakov I.N., Grinakovskaya O.S., Solovieva E.V., Kotenko K.V., Pulin A.A. 2014. Optimization of conditions of skin and gingival mucosa derived human fibroblasts obtainment and cultivation. Genes and Cells. V. IX. P. 53).
- Колокольцева Т.Д., Сабурин И.Н., Кубатиев А.А. 2016. Современные способы выделения и культивирования клеток человека и животных: учебное пособие. М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО. 50 с. (Kolokoltseva T.D., Saburina I.N., Kubatiev A.A. 2016. Modern isolation and cultivation of human and animal cells: a textbook. Moscow: FGBOU DPO RMANPO. 50 p.)
- Литвинова Л.С., Гончаров А.Г., Шуплецова В.В., Газатова Н.Д., Мелащенко О.Б., Юрова К.А., Пестрикова А.А. 2020. Анализ правового регулирования обращения пуповинной крови и ее компонентов в Российской Федерации и за рубежом. Гены и Клетки. Т. 15. № 4. С. 88. (Litvinova L.S., Goncharov A.G., Shupletsova V.V., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Yurova K.A., Pestrikova A.A. 2020. Analysis of the legal regulation of the circulation of cord blood and its components in the Russian Federation and abroad. Genes and Cells. V. 15. P. 88). <https://doi.org/10.23868/202012014>
- Романов Ю.А., Романов А.Ю. 2018. Ткани перинатального происхождения – уникальный источник клеток для регенеративной медицины. Часть I. Пуповинная кровь. Неонатология: новости, мнения, обучение. Т. 6. № 2/20. С. 64. (Romanov Yu.A., Romanov A.Yu. 2018. Tissues of perinatal origin – a unique source of cells for regenerative medicine. Part I. Cord blood. Neonatology: news, opinions, training. V. 6. P. 64).
- Танасийчук И.С., Михайленко Л.П., Маланчук О.Н., Фетисова О.А. 2017. Общий анализ пуповинной крови как возможного источника гемопоэтических стволовых клеток. Лабораторная диагностика. Восточная Европа. Т. 6. № 3. С. 380. (Tanasiychuk I.S., Mikhailenko L.P., Malanchuk O.N., Fetisova O.A. 2017. General analysis of cord blood as a possible source of hematopoietic stem cells. Laboratory Diagnostics. Eastern Europe. V. 6. P. 380).
- Трухан И.С. 2018. Питательная среда как ключевой фактор культивирования клеток млекопитающих. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. Т. 12. № 1. С. 165. (Trukhan I.S. 2018. Nutrient medium as a key factor in the cultivation of mammalian cells International J. Applied Basic Res. V. 12. P. 165).
- Тюмина О.В. 2012. Пуповинная кровь: заготовка, хранение, трансплантация и регенеративная медицина. СПб.: Синтез Бук, Наука. С. 352. (Tyumina O.V. 2012. Cord blood: harvesting, storage, transplantation and regenerative medicine. St. Petersburg: Synthesis Book, Nauka. P. 352).
- Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Якубова Д.Ю., Черярина Н.Д., Меньшенина А.П., Вереникина Е.В.,

- Адамян М.Л. 2020. Факторы семейства VEGF, IGF и TGF- β 1 в ткани сальника при раке яичников. РМЖ. Медицинское обозрение. Т. 3. С. 132. <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-3-132-136>.
- (Frantsyants E.M., Moiseenko T.I., Yakubova D.Yu., Cheryarina N.D., Menshenina A.P., Verenikina E.V., Adamyan M.L. 2020. VEGF, IGF and TGF- β 1 family factors in omental tissue in ovarian cancer. RMJ. Med. Review. V. 3. P. 132).
- Afzal E., Pakzad M., Nouri M., Moghadasali R., Zarrabi M. 2023. Human umbilical cord serum as an alternative to fetal bovine serum for *in vitro* expansion of umbilical cord mesenchymal stromal cells. Cell Tissue Bank. V. 24. P. 59. <https://doi.org/10.1007/s10561-022-10011-x>
- Al-Samerria S., Radovick S. 2021. The role of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in the control of neuroendocrine regulation of growth. Cells. V. 10. P. 2664. <https://doi.org/10.3390/cells10102664>
- Anderegg U., Halfter N., Schnabelrauch M., Hintze V. 2021. Collagen/glycosaminoglycan-based matrices for controlling skin cell responses. Biol. Chem. V. 402. P. 1325. <https://doi.org/10.1515/hsz-2021-0176>
- Baba K., Yamazaki Y., Sone Y., Sugimoto Y., Moriyama K., Sugimoto T., Kumazawa K., Shimakura Y., Takeda A. 2019. An *in vitro* long-term study of cryopreserved umbilical cord blood-derived platelet-rich plasma containing growth factors-PDGF-BB, TGF- β , and VEGF. J. Craniomaxillofac. Surg. V. 47. P. 668. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2019.01.020>
- Baig M.H., Ahmad K., Moon J.S., Park S.Y., Ho Lim J., Chun H.J., Qadri A.F., Hwang Y.C., Jan A.T., Ahmad S.S., Ali S., Shaikh S., Lee E.J., Choi I. 2022. Myostatin and its regulation: A comprehensive review of myostatin inhibiting strategies. Front. Physiol. V. 13. P. 876078. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.876078>
- Balaban C.L., Suarez C.A., Boncompain C.A., Peressutti-Bacci N., Ceccarelli E.A., Morbidoni H.R. 2022. Evaluation of factors influencing expression and extraction of recombinant bacteriophage endolysins in *Escherichia coli*. Microb. Cell Fact. V. 21. P. 40. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01766-9>
- Bartolo I., Reis R.L., Marques A.P., Cerqueira M.T. 2022. Keratinocyte growth factor-based strategies for wound re-epithelialization. Tiss. Eng. Part. B Rev. V. 28. P. 665. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2021.0030>
- Barug D., Goorden S., Herruer M., Müller M., Brohet R., de Winter P. 2014. Reference values for interleukin-6 and interleukin-8 in cord blood of healthy term neonates and their association with stress-related perinatal factors. PLoS One. V. 9. P. e114109. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114109>
- Baust J.M., Buehring G.C., Campbell L., Elmore E., Harbell J.W., Nims R.W., Price P., Reid Y.A., Simione F. 2017. Best practices in cell culture: an overview. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* V. 53. P. 669. <https://doi.org/10.1007/s11626-017-0177-7>
- Belladonna M.L., Grohmann U. 2013. Bioengineering heterodimeric cytokines: Turning promiscuous proteins into therapeutic agents. Biotechnol. Genet. Eng. Rev. V. 29. P. 149. <https://doi.org/10.1080/02648725.2013.801228>
- Berasain C., Avila M.A. 2014. Amphiregulin. *Semin. Cell Dev. Biol.* V. 28. P. 31. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.01.005>
- Blázquez-Prunera A., Díez J.M., Gajardo R., Grancha S. 2017. Human mesenchymal stem cells maintain their phenotype, multipotentiality, and genetic stability when cultured using a defined xeno-free human plasma fraction. *Stem Cell Res. Ther.* V. 8. P. 103. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0552-z>
- Bui H.T.H., Nguyen L.T., Than U.T.T. 2021. Influences of xeno-free media on mesenchymal stem cell expansion for clinical application. *Tiss. Eng. Regen. Med.* V. 18. P. 15. <https://doi.org/10.1007/s13770-020-00306-z>
- Campagnoli C., Fisk N., Overton T., Bennett P., Watts T., Roberts I. 2000. Circulating hematopoietic progenitor cells in first trimester fetal blood. *Blood.* V. 95. P. 1967.
- Cardoso R.M.S., Rodrigues S.C., Gomes C.F., Duarte F.V., Romão M., Leal E.C., Freire P.C., Neves R., Simões-Correia J. 2021. Development of an optimized and scalable method for isolation of umbilical cord blood-derived small extracellular vesicles for future clinical use. *Stem Cells Transl. Med.* V. 10. P. 910. <https://doi.org/10.1002/sctm.20-0376>
- Caseiro A.R., Ivanova G., Pedrosa S.S., Branquinho M.V., Georgieva P., Barbosa P.P., Santos J.D., Magalhães R., Teixeira P., Pereira T., Mauricio A.C. 2018. Human umbilical cord blood plasma as an alternative to animal sera for mesenchymal stromal cells *in vitro* expansion – A multicomponent metabolomic analysis. *PLoS One.* V. 13. P. e0203936. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203936>
- Chakraborty A., Dutta J., Das S., Datta H. 2013. Effect of cord blood serum on ex vivo human limbal epithelial cell culture. *J. Ocul. Biol. Dis. Infor.* V. 5. P. 77. <https://doi.org/10.1007/s12177-013-9106-5>
- Che X., Hornig M., Bresnahan M., Stoltenberg C., Magnus P., Surén P., Mjaaland S., Reichborn-Kjennerud T., Susser E., Lipkin W.I. 2022. Maternal mid-gestational and child cord blood immune signatures are strongly associated with offspring risk of ASD. *Mol. Psychiatry.* V. 27. P. 1527. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01415-4>
- Chen X.D., Liu S.X., Shan Y.L., Cai W., Tan S., Hu M.Y., Lu Z.Z. 2020. The proatherogenic effect of high salt diet combined with focal hypoperfusion on spontaneous hypertension rat. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* V. 100. P. 3407. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112137-20200806-02292>
- Chung M.I., Bujnis M., Barkauskas C.E., Kobayashi Y., Hogan B.L.M. 2018. Niche-mediated BMP/SMAD signaling regulates lung alveolar stem cell proliferation and differentiation. *Development.* V. 145, dev163014. <https://doi.org/10.1242/dev.163014>
- Custo S., Baron B., Felice A., Seria E. 2022. A comparative profile of total protein and six angiogenically-active growth factors in three platelet products. *GMS Interdiscip. Plast. Reconstr. Surg. DGPW.* V. 11. Doc06. <https://doi.org/10.3205/ipsr000167>
- D'Arena G., Musto P., Cascavilla N., Di Giorgio G., Zendoli F., Carotenuto M. 1996. Human umbilical cord blood: immunophenotypic heterogeneity of CD34⁺ hematopoietic progenitor cells. *Haematologica.* V. 81. P. 404.

- Dauber K., Becker D., Odendahl M., Seifried E., Bonig H., Tonn T.* 2011. Enumeration of viable CD34⁽⁺⁾ cells by flow cytometry in blood, bone marrow and cord blood: results of a study of the novel BD™ stem cell enumeration kit. *Cytother.* V. 13. P. 449.
<https://doi.org/10.3109/14653249.2010.529894>
- De Kinderen P., Meester J., Loeys B., Peeters S., Gouze E., Woods S., Mortier G., Verstraeten A.* 2022. Differentiation of induced pluripotent stem cells into chondrocytes: Methods and applications for disease modeling and drug discovery. *J. Bone Miner. Res.* V. 37. P. 397.
<https://doi.org/10.1002/jbmr.4524>
- de Miguel-Gómez L., López-Martínez S., Campo H., Francés-Herrero E., Faus A., Díaz A., Pellicer A., Domínguez F., Cervelló I.* 2021. Comparison of different sources of platelet-rich plasma as treatment option for infertility-causing endometrial pathologies. *Fertil. Steril.* V. 115. P. 490.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.07.053>
- Denihan N.M., Looney A., Boylan G.B., Walsh B.H., Murray D.M.* 2013. Normative levels of Interleukin 16 in umbilical cord blood. *Clin. Biochem.* V. 46. P. 1857.
<https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.07.012>
- Derynck R., Turley S.J., Akhurst R.J.* 2021. TGFβ biology in cancer progression and immunotherapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* V. 18. P. 9.
<https://doi.org/10.1038/s41571-020-0403-1>
- Dessels C., Potgieter M., Pepper M.S.* 2016. Making the switch: Alternatives to fetal bovine serum for adipose-derived stromal cell expansion. *Front. Cell Dev. Biol.* V. 4. P. 115.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00115>
- Dewidar B., Meyer C., Dooley S., Meindl-Beinker A.N.* 2019. TGF-β in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis—updated. *Cells.* V. 8. P. 1419.
<https://doi.org/10.3390/cells8111419>
- Díaz-Saez F., Blanco-Sinfreu C., Archilla-Ortega A., Sebastian D., Romero M., Hernandez-Alvarez M.I., Mora S., Testar X., Ricart W., Fernandez-Real J.M., Moreno-Navarrete J.M., Aragones J., Camps M., Zorzano A., Guma A.* 2021. Neuregulin 4 downregulation induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes through inflammation and autophagic degradation of GLUT4 vesicles. *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. P. 12960.
<https://doi.org/10.3390/ijms222312960>
- Ding Y., Lu Z., Yuan Y., Wang X., Li D., Zeng Y.* 2013. Comparison of human cord blood mesenchymal stem cell culture between using human umbilical cord plasma and using fetal bovine serum. *Sheng Wu Yi, Xue Gong Cheng, Xue Za Zhi.* V. 30. P. 1279.
- Dong L., Zhang R.H., Zhou W.D., Li Y.F., Li H.Y., Wu H.T., Shi X.H., Jonas J.B., Wei W.B.* 2022. Epiregulin, epigen and betacellulin antibodies and axial elongation in young guinea pigs with lens-induced myopization. *BMC Ophthalmol.* V. 22. P. 193.
<https://doi.org/10.1186/s12886-022-02417-8>
- Dougan M., Dranoff G., Dougan S.* 2019. GM-CSF, IL-3, and IL-5 Family of cytokines: Regulators of inflammation. *Immunity.* V. 50. P. 796.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.022>
- Drouin E.E., Seward R.J., Strle K., McHugh G., Katchar K., Londoño D., Yao C., Costello C.E., Steere A.C.* 2013. A novel human autoantigen, endothelial cell growth factor, is a target of T and B cell responses in patients with Lyme disease. *Arthritis Rheum.* V. 65. P. 186.
<https://doi.org/10.1002/art.37732>
- Eguchi R., Kawabe J.I., Wakabayashi I.* 2022. VEGF-independent angiogenic factors: Beyond VEGF/VEGFR2 signaling. *J. Vasc. Res.* V. 59. P. 78.
<https://doi.org/10.1159/000521584>
- Ehrhart J., Sanberg P.R., Garbuzova-Davis S.* 2018. Plasma derived from human umbilical cord blood: Potential cell-additive or cell-substitute therapeutic for neurodegenerative diseases. *J. Cell Mol. Med.* V. 22. P. 6157. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13898>
- Esmaeli A., Moshrefi M., Shamsara A., Eftekhar-Vaghefi S.H., Nematollahi-Mahani S.N.* 2016. Xeno-free culture condition for human bone marrow and umbilical cord matrix-derived mesenchymal stem/stromal cells using human umbilical cord blood serum. *Int. J. Reprod. Biomed.* V. 14. P. 567.
- Espósito P., Picciotto D., Battaglia Y., Costigliolo F., Viazzi F., Verzola D.* 2022. Myostatin: Basic biology to clinical application. *Adv. Clin. Chem.* V. 106. P. 181.
<https://doi.org/10.1016/bs.acc.2021.09.006>
- Farooq M., Khan A.W., Kim M.S., Choi S.* 2021. The role of fibroblast growth factor (FGF) signaling in tissue repair and regeneration. *Cells.* V. 10. P. 3242.
<https://doi.org/10.3390/cells10113242>
- Garanina E.E., Gatina D., Martynova E.V., Rizvanov A., Khaiboullina S., Salafutdinov I.* 2017. Cytokine profiling of human umbilical cord plasma and human umbilical cord blood mononuclear cells. *Blood.* V. 130. P. 4814.
https://doi.org/10.1182/blood.V130.Suppl_1.4814.4814
- Gedikbaşı A., Salihoğlu Ö., Çankaya A., Arica V., Akkuş Ch., Hatipoğlu S., Yaşar L.* 2014. The evaluation of cord blood interleukin-1β levels in normal and caesarean deliveries. *Hum. Exp. Toxicol.* V. 33. P. 1193.
<https://doi.org/10.1177/0960327113499049>
- Gillman C.E., Jayasuriya A.C.* 2021. FDA-approved bone grafts and bone graft substitute devices in bone regeneration. *Mater Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* V. 130. P. 112466.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112466>
- Gródecka-Szwajkiewicz D., Ułańczyk Z., Zagrodnik E., Łuczowska K., Rogińska D., Kawa M.P., Steciewicz I., Safranow K., Machaliński B.* 2020. Differential secretion of angiopoietic factors and expression of microRNA in umbilical cord blood from healthy appropriate-for-gestational-age preterm and term newborns—in search of biomarkers of angiogenesis-related processes in preterm birth. *Int. J. Mol. Sci.* V. 21. P. 1305.
<https://doi.org/10.3390/ijms21041305>
- Hassan G., Kasem I., Soukkarieh C., Aljamali M.* 2017. A simple method to isolate and expand human umbilical cord derived mesenchymal stem cells: Using explant method and umbilical cord blood serum. *Int. J. Stem Cells.* V. 10. P. 184. <https://doi.org/10.15283/ijsc17028>
- Hassanzadeh A., Shamlou S., Yousefi N., Nikoo M., Verdi J.* 2022. Genetically-modified stem cell in regenerative medicine and cancer therapy. A new era. *Curr. Gene Ther.* V. 22. P. 23.
<https://doi.org/10.2174/1566523221666210707125342>
- Hessefort H., Gross A., Seeleithner S., Hessefort M., Kirsch T., Perkams L., Bundgaard K.O., Gottwald K., Rau D.,*

- Graf C.G.F., Rozanski E., Weidler S., Unverzagt C. 2021. Chemical and enzymatic synthesis of sialylated glycoforms of human erythropoietin. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* V. 60. P. 25922. <https://doi.org/10.1002/anie.202110013>
- Heubel B., Nohe A. 2021. The role of BMP signaling in osteoclast regulation. *J. Dev. Biol.* V. 9. P. 24. <https://doi.org/10.3390/jdb9030024>
- Hodgkinson T., Shen B., Diwan A., Hoyland J.A., Richardson S.M. 2019. Therapeutic potential of growth differentiation factors in the treatment of degenerative disc diseases. *JOR Spine.* V. 2, e1045. <https://doi.org/10.1002/jsp2.1045>
- Huang H., Yin K., Tang H. 2020. Macrophage amphiregulin-pericyte TGF- β axis: A novel mechanism of the immune system that contributes to wound repair. *Acta Biochim. Biophys. Sin (Shanghai).* V. 52. P. 463. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmaa001>
- Ibrahim A.M., Chauhan L., Bhardwaj A., Sharma A., Fayaz F., Kumar B., Alhashmi M., AlHajri N., Alam M.S., Pottoo F.H. 2022. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative disorders. *Biomedicines.* V. 10. P. 1143. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051143>
- Imam S.S., Al-Abbasi F.A., Hosawi S., Afzal M., Nadeem M.S., Ghoneim M.M., Alshehri S., Alzarea S.I., Alquraini A., Gupta G., Kazmi I. 2022. Role of platelet rich plasma mediated repair and regeneration of cell in early stage of cardiac injury. *Regen. Ther.* V. 19. P. 144. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2022.01.006>
- Ishibashi J., Isohama Y. 2021. Bisacodyl suppresses TGF- α -induced MUC5AC production in NCI-H292 cells. *Biol. Pharm. Bull.* V. 44. P. 590. <https://doi.org/10.1248/bpb.b20-00886>
- Jeppesen D.K., Fenix A.M., Franklin J.L., Higginbotham J.N., Zhang Q., Zimmerman L.J., Liebler D.C., Ping J., Liu Q., Evans R., Fissell W.H., Patton J.G., Rome L.H., Burnette D.T., Coffey R.J. 2019. Reassessment of exosome composition. *cell.* V. 177. P. 428. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.029>
- Jing Q., Wang Y., Liu H., Deng X., Jiang L., Liu R., Song H., Li J. 2016. FGFs: Crucial factors that regulate tumour initiation and progression. *Cell Prolif.* V. 49. P. 438. <https://doi.org/10.1111/cpr.12275>
- Kazlauskas A. 2017. PDGFs and their receptors. *Gene.* V. 614. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.03.003>
- Keski-Nisula L., Lappalainen M.H., Mustonen K., Hirvonen M.R., Pfefferle P.I., Renz H., Pekkanen J., Roponen M. 2010. Production of interleukin-5, -10 and interferon- γ in cord blood is strongly associated with the season of birth. *Clin. Exp. Allergy.* V. 40. P. 1658. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03601.x>
- Kim J.M., Lin C., Stavre Z., Greenblatt M.B., Shim J.H. 2020. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis. *Cells.* V. 9. P. 2073. <https://doi.org/10.3390/cells9092073>
- Kuo D., Ding J., Cohn I.S., Zhang F., Wei K., Rao D.A., Roza C., Sokhi U.K., Shanaj S., Oliver D.J., Echeverria A.P., DiCarlo E.F., Brenner M.B., Bykerk V.P., Goodman S.M., Raychaudhuri S., Rättsch G., Ivashkiv L.B., Donlin L.T. 2019. HBEGF⁺ macrophages in rheumatoid arthritis induce fibroblast invasiveness. *Sci. Transl. Med.* V. 11, eaau8587. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aau8587>
- Kwok Y.K., Tang M.H., Law H.K., Ngai C.S., Lau Y.L., Lau E.T. 2007. Maternal plasma or human serum albumin in wash buffer enhances enrichment and *ex vivo* expansion of human umbilical cord blood CD34⁺ cells. *Br. J. Haematol.* V. 137. P. 468. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06606.x>
- Laplace-Builhe B., Bartheleix A., Assou S., Bohaud C., Pralong M., Severac D., Tejedor G., Luz-Crawford P., Nguyen-Chi M., Mathieu M., Jorgensen C., Djouad F. 2021. NRG1/ErbB signalling controls the dialogue between macrophages and neural crest-derived cells during zebrafish fin regeneration. *Nat. Commun.* V. 12. P. 6336. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26422-5>
- Lee H.J., Hong Y.J., Kim M. 2021. Angiogenesis in chronic inflammatory skin disorders. *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. P. 12035. <https://doi.org/10.3390/ijms222112035>
- Lees-Shepard J.B., Flint K., Fisher M., Omi M., Richard K., Antony M., Chen P.J., Yadav S., Threadgill D., Maihle N.J., Dealy C.N. 2021. Cross-talk between EGFR and BMP signals regulates chondrocyte maturation during endochondral ossification. *Dev. Dyn.* V. 251. P. 75. <https://doi.org/10.1002/dvdy.438>
- Li T., Lu H., Zhou L., Jia M., Zhang L., Wu H., Shan L. 2022. Growth factors-based platelet lysate rejuvenates skin against ageing through NF- κ B signalling pathway: *In vitro* and *in vivo* mechanistic and clinical studies. *Cell Prolif.* V. 55, e13212. <https://doi.org/10.1111/cpr.13212>
- Li Y., Su G., Zhong Y., Xiong Z., Huang T., Quan J., Huang J., Wen X., Luo C., Zheng W., Chen J., Cheng J., Yao W., Lai T. 2021. HB-EGF-induced IL-8 secretion from airway epithelium leads to lung fibroblast proliferation and migration. *BMC Pulm. Med.* V. 21. P. 347. <https://doi.org/10.1186/s12890-021-01726-w>
- Lin H., Tian S., Peng Y., Wu L., Xiao Y., Qing X., Shao Z. 2022. IGF signaling in intervertebral disc health and disease. *Front. Cell Dev. Biol.* V. 9. P. 817099. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.817099>
- Liu X., Li C., Li J., Xie L., Hong Z., Zheng K., Zhao X., Yang A., Xu X., Tao H., Qiu M., Yang J. 2022. EGF signaling promotes the lineage conversion of astrocytes into oligodendrocytes. *Mol. Med.* V. 28. P. 50. <https://doi.org/10.1186/s10020-022-00478-5>
- Lopez J.F., Mikkola A., Sarkanen J.R., Kaartinen I.S., Kuokkanen H.O., Ylikomi T. 2022. Adipose tissue as a source of growth factors to promote wound healing: a human study of skin graft donor sites. *J. Wound. Care.* V. 31. P. 282. <https://doi.org/10.12968/jowc.2022.31.4.282>
- Lowery J.W., Rosen V. 2018. The BMP pathway and its inhibitors in the skeleton. *Physiol. Rev.* V. 98. P. 2431. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2017>
- Marei I., Chidiac O., Thomas B., Pasquier J., Dargham S., Robay A., Vakayil M., Jameesh M., Triggle C., Rafii A., Janyousi A., Suwaidi J. A., Khalil C.A. 2022. Angiogenic content of microparticles in patients with diabetes and coronary artery disease predicts networks of endothelial dysfunction. *Cardiovasc. Diabetol.* V. 21. P. 17. <https://doi.org/10.1186/s12933-022-01449-0>
- Markan K.R., Poitthoff M.J. 2016. Metabolic fibroblast growth factors (FGFs): Mediators of energy homeostasis. *Semin.*

- Cell Dev. Biol. V. 53. P. 85. <https://doi.org/10.1016/j.semedb.2015.09.021>
- Meldolesi J. 2018. Exosomes and ectosomes in intercellular communication. *Curr. Biol.* V. 28. P. R435. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.059>
- Mun S.H., Park P.S.U., Park-Min K.H. 2020. The M-CSF receptor in osteoclasts and beyond. *Exp. Mol. Med.* V. 52. P. 1239. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0484-z>
- Murphy M.B., Blashki D., Buchanan R.M., Yazdi I.K., Ferrari M., Simmons P.J., Tasciotti E. 2012. Adult and umbilical cord blood-derived platelet-rich plasma for mesenchymal stem cell proliferation, chemotaxis, and cryo-preservation. *Biomaterials.* V. 33. P. 5308. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.04.007>
- Muscella A., Vetrugno C., Cossa L.G., Marsigliante S. 2020. TGF- β 1 activates RSC96 Schwann cells migration and invasion through MMP-2 and MMP-9 activities. *J. Neurochem.* V. 153. P. 525. <https://doi.org/10.1111/jnc.14913>
- Nakamura-Ishizu A., Suda T. 2020. Multifaceted roles of thrombopoietin in hematopoietic stem cell regulation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* V. 1466. P. 51. <https://doi.org/10.1111/nyas.14169>
- Nandi S., Dey R., Samadder A., Saxena A., Saxena A.K. 2022. Natural sourced inhibitors of EGFR, PDGFR, FGFR and VEGFR mediated signaling pathways as potential anticancer agents. *Curr. Med. Chem.* V. 29. P. 212. <https://doi.org/10.2174/0929867328666210303101345>
- Noh K.C., Liu X.N., Zhuan Z., Yang C.J., Kim Y.T., Lee G.W., Choi K.H., Kim K.O. 2018. Leukocyte-poor platelet-rich plasma-derived growth factors enhance human fibroblast proliferation in vitro. *Clin. Orthop. Surg.* V. 10. P. 240. <https://doi.org/10.4055/cios.2018.10.2.240>
- Oo W.M., Hunter D.J. 2021. Nerve growth factor (NGF) inhibitors and related agents for chronic musculoskeletal pain: A comprehensive review. *BioDrugs.* V. 35. P. 611. <https://doi.org/10.1007/s40259-021-00504-8>
- Ornitz D.M., Itoh N. 2015. The fibroblast growth factor signaling pathway. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* V. 4. P. 215. <https://doi.org/10.1002/wdev.176>
- Ostrovskaya R.U., Ivanov S.V. 2022. Neuroprotective substances: are they able to protect the pancreatic beta-cells too? *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* V. 22. P. 834. <https://doi.org/10.2174/1871530322666220303162844>
- Pereira T., Ivanova G., Caseiro A.R., Barbosa P., Bartolo P.J., Santos J.D., Luís A.L., Maurício A.C. 2014. MSCs conditioned media and umbilical cord blood plasma metabolomics and composition. *PloS one.* V. 9, e113769. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113769>
- Phelan K., May K.M. 2017. Mammalian cell tissue culture techniques. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* V. 117. P. A.3F.1. <https://doi.org/10.1002/cpmb.31>. PMID: 28060407
- Pickler R., Brown L., McGrath J., Lyon D., Rattican D., Cheng C.Y., Howland L., Jallo N. 2010. Integrated review of cytokines in maternal, cord, and newborn blood: Part II – associations with early infection and increased risk of neurologic damage in preterm infants. *Biol. Res. Nurs.* V. 11. P. 377. <https://doi.org/10.1177/1099800409344619>
- Pietrowska M., Wlosowicz A., Gawin M., Widlak P. 2019. MS-based proteomic analysis of serum and plasma: problem of high abundant components and lights and shadows of albumin removal. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 1073. P. 57. https://doi.org/10.1007/978-3-030-12298-0_3
- Pikula M., Langa P., Kosikowska P., Trzonkowski P. 2015. Stem cells and growth factors in wound healing. *Postepy Hig. Med. Dosw (Online).* V. 69. P. 874. <https://doi.org/10.5604/17322693.1162989>
- Ponomarev L.C., Ksiazkiewicz J., Staring M.W., Luttun A., Zwijsen A. 2021. The BMP pathway in blood vessel and lymphatic vessel biology. *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. P. 6364. <https://doi.org/10.3390/ijms22126364>
- Pour M.S.S., Vahidi R., Lashkari M., Derakhshani A., Ameri Z., Farsinejad A. 2020. Cord blood serum harvesting by hydroxyethyl starch: a fetal bovine serum alternative in expansion of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Cytotechnol.* V. 72. P. 551. <https://doi.org/10.1007/s10616-020-00404-9>
- Pranke P., Hendrikx J., Alespeiti G., Nardi N., Rubinstein P., Visser J. 2006. Comparative quantification of umbilical cord blood CD34⁺ and CD34⁺ bright cells using the ProCount-BD and ISHAGE protocols. *Braz. J. Med. Biol. Res.* V. 39. P. 901. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006000700008>
- Price P.J. 2017. Best practices for media selection for mammalian cells. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* V. 53. P. 673. <https://doi.org/10.1007/s11626-017-0186-6>
- Rallapalli S., Guhathakurta S., Bishi D.K., Subbarayan R., Mathapati S., Korrapati P.S. 2021. A critical appraisal of humanized alternatives to fetal bovine serum for clinical applications of umbilical cord derived mesenchymal stromal cells. *Biotechnol. Lett.* V. 43. P. 2067. <https://doi.org/10.1007/s10529-021-03180-4>
- Reis C., Chambel S., Ferreira A., Cruz C.D. 2022. Involvement of nerve growth factor (NGF) in chronic neuropathic pain – a systematic review. *Rev. Neurosci.* V. 34. P. 75. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2022-0037>
- Rhéaume M.E., Perreault J., Fournier D., Trépanier P. 2022. Preparation and growth factor characterization of cord blood-derived plasma, serum, growth factor-rich plasma and induced serum. *Cytokine.* V. 149. P. 155756. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155756>
- Richani D., Gilchrist R.B. 2018. The epidermal growth factor network: Role in oocyte growth, maturation and developmental competence. *Hum. Reprod. Update.* V. 24. P. 1. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx029>
- Ríos-Galacho M., Martínez-Moreno D., López-Ruiz E., Gálvez-Martín P., Marchal J.A. 2022. An overview on the manufacturing of functional and mature cellular skin substitutes. *Tissue Eng. Part B Rev.* V. 28. P. 1035. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2021.0131>
- Rochette L., Mazini L., Meloux A., Zeller M., Cottin Y., Vergely C., Malka G. 2020. Anti-aging effects of GDF11 on skin. *Int. J. Mol. Sci.* V. 21. P. 2598. <https://doi.org/10.3390/ijms21072598>
- Rodrigues S.C., Cardoso R.M.S., Gomes C.F., Duarte F.V., Freire P.C., Neves R., Simoes-Correia J. 2021. Toxicological profile of umbilical cord blood-derived small extracellular vesicles. *Membranes (Basel).* V. 11. P. 647. <https://doi.org/10.3390/membranes11090647>

- Romanov Y.A., Vtorushina V.V., Dugina T.N., Romanov A.Y., Petrova N.V. 2019. Human umbilical cord blood serum/plasma: Cytokine profile and prospective application in regenerative medicine. *Bull. Exp. Biol. Med.* V. 168. P. 173. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04670-2>
- Rungsiwut R., Ingrungruanglert P., Numchaisrika P., Virutamasen P., Phermthai T., Pruksananonda K. 2016. Human umbilical cord blood-derived serum for culturing the supportive feeder cells of human pluripotent stem cell lines. *Stem Cells Int.* V. 2016. P. 4626048. <https://doi.org/10.1155/2016/4626048>
- Sadeghi S., Kalhor H., Panahi M., Abolhasani H., Rahimi B., Kalhor R., Mehrabi A., Vahdatinia M., Rahimi H. 2021. Keratinocyte growth factor in focus: A comprehensive review from structural and functional aspects to therapeutic applications of palifermin. *Int. J. Biol. Macromol.* V. 191. P. 1175. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.151>
- Sane M.S., Misra N., Mousa O.M., Czop S., Tang H., Khoo L.T., Jones C.D., Mustafi S.B. 2018. Cytokines in umbilical cord blood-derived cellular product: a mechanistic insight into bone repair. *Regen. Med.* V. 13. P. 881. <https://doi.org/10.2217/rme-2018-0102>
- Schär M.O., Diaz-Romero J., Kohl S., Zumstein M.A., Nesic D. 2015. Platelet-rich concentrates differentially release growth factors and induce cell migration in vitro. *Clin. Orthop. Relat. Res.* V. 473. P. 1635. <https://doi.org/10.1007/s11999-015-4192-2>
- Shimizu Y., Ntege E.H., Sunami H. 2022. Current regenerative medicine-based approaches for skin regeneration: A review of literature and a report on clinical applications in Japan. *Regen. Ther.* V. 21. P. 73. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2022.05.008>
- Simonetti A.B., Englert G.E., Campos K., Mergener M., De David C., De Oliveira A.P., Roehe P.M. 2007. Nanobacteria-like particles: A threat to cell cultures. *Brazilian J. Microbiol.* V. 38. P. 153.
- Singh S.S., Chauhan S.B., Kumar A., Kumar S., Engwerda C.R., Sundar S., Kumar R. 2022. Amphiregulin in cellular physiology, health, and disease: Potential use as a biomarker and therapeutic target. *J. Cell Physiol.* V. 237. P. 1143. <https://doi.org/10.1002/jcp.30615>
- Skuratovskaia D., Vulf M., Khaziakhmatova O., Malashchenko V., Komar A., Shunkin E., Gazatova N., Litvinova L. 2021. Exosome limitations in the treatment of inflammatory diseases. *Curr. Pharm. Des.* V. 27. P. 3105. <https://doi.org/10.2174/1381612826666201210120444>
- Sousa F., Costa-Pereira A.I., Cruz A., Ferreira F.J., Gouveia M., Bessa J., Sarmiento B., Travasso R.D.M., Pinto I.M. 2021. Intratumoral VEGF nanotrappor reduces glioblastoma vascularization and tumor cell mass. *J. Control. Release.* V. 339. P. 381. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.09.031>
- Stavropoulos A., Wikesjo U.M. 2012. Growth and differentiation factors for periodontal regeneration: A review on factors with clinical testing. *J. Periodontol. Res.* V. 47. P. 545. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01478.x>
- Sulaiman A., McGarry S., Chilumula S. Ch., Kandunuri R., Vinod V. 2021. Clinically translatable approaches of inhibiting TGF- β to target cancer stem cells in TNBC. *Biomedicines.* V. 9. P. 1386. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101386>
- Sun C., Tian X., Jia Y., Yang M., Li Y., Fernig D.G. 2022. Functions of exogenous FGF signals in regulation of fibroblast to myofibroblast differentiation and extracellular matrix protein expression. *Open Biol.* V. 12. P. 210356. <https://doi.org/10.1098/rsob.210356>
- Sun J., Hu Y., Fu Y., Zou D., Lu J., Lyu C. 2022. Emerging roles of platelet concentrates and platelet-derived extracellular vesicles in regenerative periodontology and implant dentistry. *APL Bioeng.* V. 6. P. 031503. <https://doi.org/10.1063/5.0099872>
- Taeger J., Moser C., Hellerbrand C., Mycielska M.E., Glockzin G., Schlitt H.J., Geissler E.K., Stoeltzing O., Lang S.A. 2011. Targeting FGFR/PDGFR/VEGFR impairs tumor growth, angiogenesis, and metastasis by effects on tumor cells, endothelial cells, and pericytes in pancreatic cancer. *Mol. Cancer. Ther.* V. 10. P. 2157. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-11-0312>
- Tang Y.T., Huang Y.Y., Zheng L., Qin S.H., Xu X.P., An T.X., Xu Y., Wu Y.S., Hu X.M., Ping B.H., Wang Q. 2017. Comparison of isolation methods of exosomes and exosomal RNA from cell culture medium and serum. *Int. J. Mol. Med.* V. 40. P. 834. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3080>
- Taylor S.R., Markesbery M.G., Harding P.A. 2014. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) and proteolytic processing by a disintegrin and metalloproteinases (ADAM): a regulator of several pathways. *Semin. Cell Dev. Biol.* V. 28. P. 22. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2014.03.004>
- Terashvili M., Bosnjak Z.J. 2019. Stem cell therapies in cardiovascular disease. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* V. 33. P. 209. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2018.04.048>
- Tominaga K., Suzuki H.I. 2019. TGF- β Signaling in cellular senescence and aging-related pathology. *Int. J. Mol. Sci.* V. 20. P. 5002. <https://doi.org/10.3390/ijms20205002>
- Venugopal H., Hanna A., Humeres C., Frangogiannis N.G. 2022. Properties and functions of fibroblasts and myofibroblasts in myocardial infarction. *Cells.* V. 11. P. 1386. <https://doi.org/10.3390/cells11091386>
- Vlaski-Lafarge M., Chevalere J., Cohen J., Ivanovic Z., Lafarge X. 2020. Discarded plasma obtained after cord blood volume reduction as an alternative for fetal calf serum in mesenchymal stromal cells cultures. *Transfusion.* V. 60. P. 1910. <https://doi.org/10.1111/trf.15920>
- Wang J.F., Li F.H., Shen D.L., Song Y., Wang Y.Y., Zhou J.M., Ge J.B. 2021. Effect of neuregulin-1 on cardiac glucose metabolism in rats with experimental myocardial infarction. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* V. 49. P. 912. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112148-20210628-00549>
- Wang Y., Appiah-Kubi K., Wu M., Yao X., Qian H., Wu Y., Chen Y. 2016. The platelet-derived growth factors (PDGFs) and their receptors (PDGFRs) are major players in oncogenesis, drug resistance, and attractive oncologic targets in cancer. *Growth Factors.* V. 34. P. 64. <https://doi.org/10.1080/08977194.2016.1180293>
- Widyaningrum R., Burnouf T., Nebie O., Delila L., Wang T.J. 2021. A purified human platelet pellet lysate rich in neurotrophic factors and antioxidants repairs and protects corneal endothelial cells from oxidative stress. *Biomed. Pharmacother.* V. 142. P. 112046. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112046>

- Wu J.Y., Lu Y., Chen J.S., Wu S.Q., Tang X.W., Li Y. 2015. Pooled umbilical cord blood plasma for culturing UCMSC and ex vivo expanding umbilical cord blood CD34⁺ Cells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. V. 23. P. 1112. <https://doi.org/10.7534/j.issn.1009-2137.2015.04.040>
- Yamada N., Matsushima-Nishiwaki R., Masue A., Taguchi K., Kozawa O. 2019. Olive oil polyphenols suppress the TGF- α -induced migration of hepatocellular carcinoma cells. *Biomed. Rep.* V. 1. P. 1. <https://doi.org/10.3892/br.2019.1215>
- Yan Y., Wang Q. 2021. BMP Signaling: Lighting up the way for embryonic dorsoventral patterning. *Front. Cell Dev. Biol.* V. 9. P. 799772. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.799772>
- Yáñez-Mó M., Siljander P.R., Andreu Z., Zavec A.B., Borràs F.E., Buzas E.I., Buzas K., Casal E., Cappello F., Carvalho J., Colás E., Cordeiro-da Silva A., Fais S., Falcon-Perez J.M., Ghobrial I.M.; et al.; 2015. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J. Extracell. Vesicles*. V. 4. P. 27066. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27066>
- Yen T.T., Thao D.T., Thuoc T.L. 2014. An overview on keratinocyte growth factor: From the molecular properties to clinical applications. *Protein Pept. Lett.* V. 21. P. 306. <https://doi.org/10.2174/09298665113206660115>
- Zaiss D.M.W., Gause W.C., Osborne L.C., Artis D. 2015. Emerging functions of amphiregulin in orchestrating immunity, inflammation, and tissue repair. *Immunity*. V. 42. P. 216. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.01.020>
- Zhang X., Kang X., Jin L., Bai J., Liu W., Wang Z. 2018. Stimulation of wound healing using bioinspired hydrogels with basic fibroblast growth factor (bFGF). *Int. J. Nanomedicine*. V. 13. P. 3897. <https://doi.org/10.2147/IJN.S168998>
- Zhou W., Wu F., Yao D., Xie C. 2021. Production of high-purity recombinant human vascular endothelial growth factor (rhVEGF165) by *Pichia pastoris*. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. V. 37. P. 4083. <https://doi.org/10.13345/j.cjb.210021>
- Ziegler C.G., Van Sloun R., Gonzalez S., Whitney K.E., DePhillipo N.N., Kennedy M.I., Dornan G.J., Evans T.A., Huard J., LaPrade R.F. 2019. Characterization of growth factors, cytokines, and chemokines in bone marrow concentrate and platelet-rich plasma: A prospective analysis. *Am. J. Sports Med.* V. 47. P. 2174. <https://doi.org/10.1177/0363546519832003>
- Zimmerman A.M., Vierck J.L., O'Reilly B.A., Dodson M.V. 2000. Formulation of a defined medium to maintain cell health and viability in vitro. *Methods Cell Sci.* V. 22. P. 43. <https://doi.org/doi:10.1023/a:1009832828007>

UMBILICAL BLOOD AS A TROPHIC-GROWTH SUPPLEMENT FOR CULTURAL WORK

A. G. Goncharov^a, V. V. Shupletsova^a, N. D. Gazatova^a,
O. B. Melashchenko^a, K. A. Yurova^a, L. S. Litvinova^{a, b, *}

^aCenter of Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, 236041, Russia

^bLaboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Tomsk, 634050, Russia

*e-mail: larisalitvinova@yandex.ru

This review analyzes the results of modern high-tech research on the use of umbilical cord blood serum/plasma as an additive to culture media for cell culture growth. Since culture media are a key factor in cell culture, the review addresses the composition and properties of the major culture media used in cell biology and regenerative medicine. The authors pay special attention to growth factors; they describe the functional properties of the main families of these polypeptides (fibroblast growth factors, epidermal growth factors, transforming growth factors, differentiation growth factors, epidermal growth factors, endothelial cell growth factors, hematopoietic growth factors, etc.). It was found that one of the most promising sources of growth factors is cord blood serum/plasma. In this publication, the main technologies for cord blood collection and systematic studies on the content of growth factors, cytokines, exosomes and mRNA in cord blood are presented. Experimental data on the use of umbilical cord blood serum/plasma as an additive to culture media for the growth of various cell cultures of animal origin are described. Human umbilical cord blood serum/plasma is an affordable, safe product with a high content of biologically active molecules compared to animal sources. In order for umbilical cord blood serum/plasma to be widely used as an adjunct to culture media, standards for the manufacture and testing of this product must be developed.

Keywords: umbilical cord blood, umbilical cord blood serum/plasma, animal cell culture media, growth factors, cytokines, exosomes and mRNA, animal cell culture