

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ЛЕЧЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦНС

(обзор литературы)

В.М. Семенова, Д.М. Егорова

Государственное учреждение Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова АМН
Украины, 04050, Киев, seveme22@rambler.ru

В обзоре литературы обобщены современные представления о биологических свойствах мезенхимальных стволовых клеток (МСК) взрослого организма. Особое внимание уделено особенностям получения и культивирования плюрипотентных аутологических МСК стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СКЖТ). Рассмотрены методы направленной нейрогенной дифференцировки СКЖТ и перспективы их использования в восстановительном лечении ряда заболеваний ЦНС. Освещены возможные нежелательные последствия и опасности неконтролируемой спонтанной дифференцировки МСК в разнородные клеточные линии.

Ключевые слова: стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки, жировая ткань, нейрогенная дифференцировка, культивирование клеток, заболевания ЦНС.

Современное состояние учения о биологии мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из различных тканевых источников взрослого человека позволяет надеяться на возможность их использования как объекта тканевой терапии в восстановительном лечении ряда заболеваний ЦНС - нейродегенеративных, ишемических, травматических, наследственных и др. Показана высокая выживаемость с признаками нейрогенной дифференцировки предварительно культивированных МСК из жировой ткани (ЖТ) человека при аллотрансплантации в ЦНС иммунодефицитных мышей и крыс, а также при ауто- и аллотрансплантации от человека к человеку при введении клеток в мозг гистосовместимых пациентов с цереброваскулярным инсультом, болезнью Паркинсона, болезнью Альцгеймера (1). Установлено, что благодаря паракринной функции МСК позитивно влияют на состояние больных при некоторых видах патологии нервной системы. Это подтверждается экспрессией нейрогенина 1 (Ngn1) и пронеурального гена, которые преобразуют мезодермальный путь развития МСК в нейрогенный (2).

Восстановительная функция МСК объясняется их плюрипотентностью, способностью к

направленной миграции в область повреждения, а также их адгезивными свойствами. К общим свойствам МСК относят их высокий пролиферативный потенциал и способность к симметричному и асимметричному делению. При этом терапевтический системный эффект трансплантации МСК, наблюдаемый в ряде доклинических и клинических испытаний, определяется не только дифференцировкой, но и регуляторной функцией этих клеток (3, 4). Так как МСК способны подавлять иммунореактивность, их клиническое применение приобретает особо важное значение при ряде аутоиммунных заболеваний (красная волчанка, рассеянный склероз), а также при трансплантации органов и тканей. Сходные механизмы течения этих процессов и реакции «трансплантат против хозяина» позволяют предположить, что трансплантация МСК может затормозить развитие этих заболеваний (4).

В настоящее время особенно активно обсуждается возможность использования для клеточной терапии плюрипотентных аутологических СК стромально-вазкулярной фракции жировой ткани (СКЖТ), содержащей малодифференцированные клетки-предшественники в соединительнотканых междольковых перегородках. Первостепенным преимуществом СКЖТ является доступность получения ЖТ в достаточном объеме практически для любого пациента, а также относительно несложные ферментативные процедуры их обработки для культивирования. В связи с этим ЖТ рассматривается как оптимальный ресурс для клеточной терапии, в том числе, и для регенерации поврежденной нервной ткани. Предполагается, что ЖТ может явиться альтернативным источником аутологических СК, которые можно получать малоинвазивным способом в необходимых количествах под местной анестезией, неоднократно, с минимальными неудобствами для пациента при низкой контаминированности другими видами клеток (35).

Так как механизмы восстановительного влияния МСК из ЖТ включают эффекты, связанные с их секреторной активностью, они могут принимать участие в репаративных процессах в организме, в восстановлении поврежденной сосудистой сети, а также в регуляции иммунных процессов, что значительно повышает восстановительный эффект клеточной терапии при их использовании (5, 6).

Как известно, ЖТ взрослого человека имеет сложный клеточный состав и содержит зрелые адипоциты, преадипоциты, фибробласты, гладкомышечные клетки, эндотелиальные клетки, моноциты, макрофаги и Т-лимфоциты. Стромально-вазкулярная фракция клеток ЖТ (СКЖТ) - это клетки, полученные сразу после их выделения из ЖТ ферментативным путем с помощью коллагеназы. При многих пассажах эти клетки поддерживают свои характеристики,

демонстрируют мультипотентную дифференцировку и могут быть охарактеризованы с использованием мультипанели мезенхимальных маркеров дифференцировки (табл. 1). Согласно рекомендациям Международного общества по применению технологий работы с ЖТ, МСК, выделенные из ЖТ, определяются как «стволовые клетки жировой ткани» (Adipose-Derived Stem Cells – ASCs). В табл. 1 представлен молекулярный фенотип СКЖТ (цитировано по Shaffler A., Buchler Ch., 2007 (7)).

Таблица 1. Молекулярный фенотип СКЖТ.

СКЖТ-позитивные клеточные маркеры	СКЖТ-негативные клеточные маркеры
CD9	CD116
CD10	CD14
CD13	CD19
CD29	CD31
CD44	CD34
CD49(d)	CD45
CD49(e)	CD79L
CD54	CD80
CD55	CD117
CD59	CD133
CD73	CD144
CD90	HLA-DR
CD105	c-kit
CD106	MyD88
CD146	STRO-1
CD166	Lin
HLA I	HLA II
Фибронектин	
Эндомуцин	
ASMA (α -актинин, специфичный для гладких мышц)	
Виментин	
Коллаген-1	

Понимание общего профиля экспрессии генов и белков в СКЖТ является первостепенным

условием для их успешного культивирования и специфической дифференцировки, а, следовательно, и для высокоэффективной клеточной терапии. СКЖТ на своей поверхности могут экспрессировать перечисленные выше клеточные маркеры. Приведенная информация обобщена по данным литературы, причем экспрессия поверхностных маркеров изучалась не на «первичных» клетках, а на клетках, полученных *in vitro*.

До настоящего времени были неизвестны поверхностные маркеры, экспрессируемые СКЖТ, и их отличия от маркеров, экспрессируемых фибробластами. Считается, что МСК должны, как минимум, экспрессировать CD105, CD73, CD90 и должны быть лишены маркеров гемопоэтической линии: c-kit, CD14, CD116, CD34, CD79L, CD19, HLA-DR. При этом отсутствие экспрессии HLA-DR и иммуносупрессивные свойства СКЖТ делают их пригодными для аллогенной трансплантации без риска отторжения тканей. Кроме того, они не вызывают *in vitro* аллореактивность несовместимых лимфоцитов, тормозят смешанные лимфоцитарные реакции и пролиферативный ответ лимфоцитов на митогены. Это подтверждает мнение о том, что СКЖТ обладают такими же иммуносупрессивными свойствами, как и МСК из КМ, и могут быть их альтернативой (5, 7, 8, 9, 10).

При сравнительном анализе с помощью микроаналитических тестов характера экспрессии генов человеческих МСК, полученных из ЖТ, КМ, пуповинного канатика и нормальных фибробластов, обнаружено 25 генов (включая гены фибронектина, ECM2, глипикана-4, ID1, NFIB, HOXA5 и HOXB6), которые сверхэкспрессировались в препаратах МСК по сравнению с фибробластами. Между тремя препаратами МСК не выявлены отличия при использовании панели с 22 поверхностными антигенами. Однако при сравнении СК из ЖТ и из КМ с МСК из пуповинного канатика обнаружено несколько сотен дифференцированно экспрессированных генных последовательностей (11).

В настоящее время разработаны оптимальные методы выделения, культивирования и дифференцировки МСК из КМ и ЖТ в остео-, адипо-, миохондрогенные и нейрональные линии. В эксперименте установлено, что на скорость пролиферации и способность СКЖТ к дифференцировке могут влиять возраст донора, тип ткани (белая или бурая ЖТ), область забора (подкожная или висцеральная ЖТ), вид хирургической манипуляции, а также условия культивирования: контакт с пластиком, плотность посева, состав питательной среды (12, 13, 14, 15). При этом скорость пролиферации СК из ЖТ и период удвоения клеточной популяции зависят от вида хирургической манипуляции при некоторых преимуществах резекции и тумесцентной липосакции в сравнении с ультразвуковой липосакцией (12). Однако De Ugarte

D.A. и соавторы (16) сравнивая МСК, полученные из КМ и СК из липоаспирата ЖТ у одного и того же пациента, не выявили различий в получении эффективного количества СК, в кинетике их роста, старения, способности к многорядной дифференцировке и эффективности трансдукции генов. Судя по всему, еще окончательно не определена единая комбинация методик обработки и получения СК, которая имела бы преимущества (13).

Показано, что способность к адгезии и пролиферации более выражена у СКЖТ, полученных от доноров более молодого возраста, хотя по мере старения организма способность этих клеток к дифференцировке не утрачивается (17). Обнаружено также, что выделенные СКЖТ могут сохраняться с помощью криометодов и рекультивироваться *in vitro* (18). В то же время, на выживаемость и способность к дифференцировке СКЖТ и изоляции разных подтипов клеток могут влиять различные по качеству коллагеназные препараты и разная скорость центрифугирования.

Установлено также, что скорость роста и продолжительность жизни СКЖТ можно повысить с помощью использования антиоксидантов (например, N-ацетил- L-цистеин, L-аскорбиновая кислота) и низкой концентрации кальция (19). Пролиферацию СКЖТ можно стимулировать фактором роста фибробластов (FGF-2) через FGF-рецептор-2 (20), сфингозилфосфорилхолином через активацию c-jun N-терминал киназы (JNK) (21), тромбоцитарным фактором роста через активацию JNK (22) и с помощью онкостатина М через активацию протеинкиназы JAK3/STAT1-пути, ассоциированной с микроканальцами (23). Продолжительность жизни человеческих СКЖТ может быть увеличена сверхэкспрессией каталитической субъединицы гена человеческой теломеразы (24).

По данным Zaragosi L.E. и соавторов (25) СКЖТ осуществляют экспрессию аутокринного FGF-2 кольца, которое обеспечивает их способность к самообновлению *in vitro*. Поскольку ингибирование MEK1 снижает клоногенный потенциал СК из ЖТ, не влияя на их способность к дифференцировке, ERK1/2 сигнальный путь, вероятно, принимает участие в FGF-2-опосредованном самообновлении.

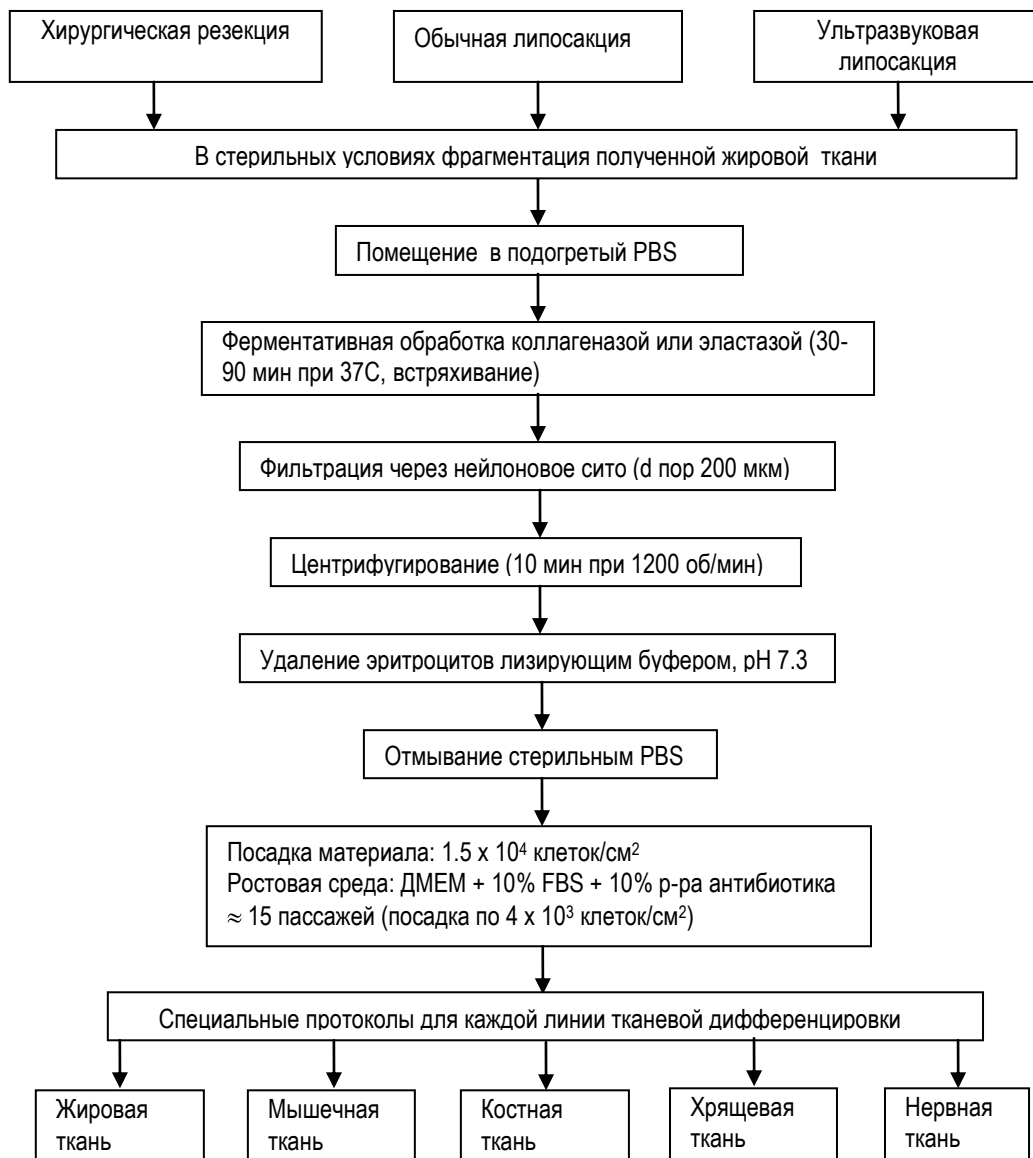
Представляет интерес способность СКЖТ продуцировать сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста гепатоцитов (HGF) и инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) (26), а фактор некроза опухоли-L может существенно увеличивать секрецию VEGF, HGF и IGF-1 СКЖТ за счет p38 митогенактивированного протеин-киназозависимого механизма. Предполагается, что дальнейшее углубление знаний о молекулярных механизмах, регулирующих пролиферацию СКЖТ, будет способствовать совершенствованию методов их

изоляции и культивирования.

Известно, что СКЖТ способны дифференцироваться в мезодермальные клетки: адипоциты, фибробласты, миоциты, остеоциты и хондроциты путем рядоспецифической дифференцировки (27). В то же время накапливается все больше данных о способности СКЖТ дифференцироваться в нейроны, эндокринные клетки, гепатоциты, эндотелиоциты и кардиомиоциты. Таким образом, СКЖТ обладают перекрестно-ростковой пластичностью (7). Клетки с нейроноподобной морфологией, полученные в результате направленной дифференцировки из СКЖТ, экспрессируют некоторые маркеры, в том числе нейронспецифичные белки NSE, NeuN и нестин, подтверждающие их нейрональный фенотип (9, 28). Как известно, нейрогенная дифференцировка СК различного генеза сопровождается повышением экспрессии специфических генов и появлением в них таких белков цитоскелета, как нестин (маркер ранних нейральных предшественников), нейрональная форма тубулина - 3, глиальный кислый фибриллярный белок GFAP (маркер астроцитарной глии), белок, взаимодействующий с микротрубочками MAP2, специфичная для нейронов энолаза Eno2 и некоторые другие маркеры нейрогенной дифференцировки. Индукция нейрогенной дифференцировки СКЖТ возможна также с помощью ретиноевой кислоты (29) и нейротрофических факторов (30).

Нейрогенные эффекты ретиноевой кислоты *in vitro* могут быть оценены и по экспрессии гена Wnt-13 (31), при этом она стимулирует образование функционально незрелых нейронов с недоразвитой сетью синапсов при отсутствии электровозбудимости их мембраны. Прединкубация таких незрелых форм в кондиционированной среде после культивирования зрелых астроцитов завершала дифференцировку цитоплазматических тел нейронов и их медиаторную специализацию. Однако, несмотря на то, что полученные *in vitro* нейроны человека из ЭСК уже начали использоваться в клинических испытаниях, научная база рестрикционного созревания ЭСК в нейроны только формируется. Детали программы лабораторного нейрогенеза строго засекречены и приватизированы частными фирмами. По-видимому, от идеи «один сигнал - один фенотип» приходится отказаться. Известно лишь, что рестрикционное созревание любой соматической линии клеток находится под контролем множества сигналов (31). В табл.2 приведен схематичный протокол рациональной процедуры получения СК (7).

Таблица 2. Протокол рациональной процедуры получения СК из ЖТ



Полученные после липосакции или хирургического вмешательства образцы ЖТ подвергаются ферментативной обработке коллагеназой (9) или эластазой (5). Из суспензии отдельных клеток путем центрифугирования выделяется осадочная фракция клеток стромально-васкулярного фенотипа, состоящая в основном из CD34+ клеток с примесью CD45+ лейкоцитарных клеток и эритроцитов (10, 32). Примесь эритроцитов удаляется из осадочной фракции с помощью инкубации клеток в лизирующем эритроциты буфере, при последующем культивировании клеток стромально-васкулярного фенотипа элиминируются CD45+ лейкоцитарные клетки крови за счет их слабой адгезии к необработанному пластику. В зависимости от источника и методики выделения из 1 г ЖТ удается получить 10^5 - 10^6 клеток (5). Полученные клетки способны дифференцироваться в клетки с нейроноподобной

морфологией и экспрессируют некоторые маркеры (нейронспецифичные белки NSE, NeuN и нестин), подтверждающие их нейрональный фенотип (9, 28).

Описана также нейрональная дифференцировка азацитидином СК, полученных из липоасpirата человека (33). СК, полученные из жира мочки уха человека, также поддерживали способность к самообновлению и дифференцировке в разные клеточные линии в специфических условиях культивирования. Последующая инкубация *in vitro* человеческих СКЖТ в присутствии bFGF и форсколина вызывала их дифференцировку в нейроны и глию (34).

Anghileri E. и соавторы (35) исследовали потенциал нейрогенной дифференцировки СКЖТ человека по протоколу, который включал формирование нейросфер и последующее культивирование с мозговым нейротрофическим фактором (BDNF) в сочетании с ретиноевой кислотой. Через 30 дней у 57% СКЖТ были выявлены морфологические, иммуноцитохимические и электрофизиологические признаки начальной нейрогенной дифференцировки. Клетки приобрели удлинённую форму с протрузией двух или трех клеточных отростков, селективно экспрессировали нестин и нейронные молекулы (включая рецептор GABA и тироксин гидроксилазу) при отсутствии глиальных фенотипичных маркеров.

Лопатина Т.В. и соавторы (36) СКЖТ второго пассажа культивировали с различными агентами: изобутилметилксантином (Isobutylmethylxanthine, IBMX), b-меркаптоэтанолом, глиа-производным нейротрофическим фактором (glial cell line derived neurotrophic factor, GDNF), мозговым нейротрофическим фактором (brain-derived neurotrophic factor; BDNF), ретиноевой кислотой (retinoic acid, RA), 5-азацитидином, а также с сочетанием этих веществ. Эффективность нейральной индукции оценена на основе повышения транскрипции маркерных генов нейральной дифференцировки: нестина, 3-тубулина, MAP2 и нейрон-специфической энолазы (Epo2). Экспрессию маркерных белков нейральной дифференцировки тестировали с помощью вестерн-блот анализа. При добавлении в индуцирующую среду RA или BDNF в сочетании с 5-азацитидином и культивировании СКЖТ с этими индукторами в течение недели повышалось содержание мРНК и белка нестина, тубулина и Epo2. При трансплантации в головной мозг мыши индуцированных в нейроны мышинных СКЖТ увеличивалась продолжительность жизни этих клеток, а также наблюдалась их миграция из области введения в смежную ткань мозга реципиента. Авторы заключили, что воздействие на СКЖТ ретиноевой кислоты и BDNF в сочетании с 5-азацитидином повышает уровень транскрипции нейральных маркеров, а также жизнеспособность и интеграцию

трансплантированных клеток в головном мозге мыши.

Описана также нейроноподобная дифференцировка человеческих МСК, полученных из КМ, ЖТ, селезенки и тимуса, индуцированная либо химическими факторами, либо кокультивированием со шванновскими клетками человека (37). В кондиционированной среде для нейрального дифференцирования большинство МСК из КМ, ЖТ, селезенки и тимуса приобретали фенотипические особенности клеток астроцитарно/нейронального и олигодендроглиального генеза, однако процесс был переходным и обратимым, поскольку МСК возвращались к первоначальной морфологии и фенотипу. Авторы предположили, что химические факторы являются главным стимулом для нейрального дифференцирования МСК, инициируя нестрогие специфические изменения. В отличие от этого, кокультивирование МСК различного гистогенеза со шванновскими клетками приводило к длительной, более устойчивой дифференцировке в шванновские клетки с экспрессией белков миелина на протяжении 12 дней. Авторы считают, что эти результаты могут иметь большое значение в разработке терапевтических подходов к лечению хронических нейропатий.

Wilkison W.O. и Gimble J.M. (1) предложен многостадийный способ получения предназначенной для трансплантации популяции СКЖТ, индуцированных к нейральной дифференцировке ретиноевой кислотой в сочетании с нейротрофическим фактором BDNF (35). Способ предусматривает культивирование популяции стромальных СКЖТ человека в стандартных условиях в течение 3-5 недель, затем 2-х этапную индукцию нейральной дифференцировки: в течение 3 дней культивирование клеток в бессывороточной среде с наличием bFGF (20нг/мл) и hEGF (20нг/мл), что приводит к образованию нейросфер, и затем в течение 30 дней - в присутствии 10 нг/мл BDNF и 0,75 мМ ретиноевой кислоты (RA). Недостатками способа являются его длительность и недостаточная эффективность, т.к. морфологические и иммуноцитохимические признаки нейральной дифференцировки проявляются примерно у половины клеток.

Способ Парфеновой Е.В. и соавторов (38) позволяет повысить этот показатель путем увеличения суммарной популяции из ЖТ TrkB-позитивных клеток, чувствительных к воздействию индукторов нейральной дифференцировки. Выделение субпопуляции TrkB-позитивных клеток в культуре осуществлялось с помощью иммуномагнитной селекции или иммуносортинга с использованием антител против рецептора TrkB, а последующая индукция нейральной дифференцировки обеспечивалась нейротрофическим фактором BDNF или ретиноевой кислотой в сочетании с 5-азацитидином. Этот способ повышает выход клеток с

эффективной индукцией нейральной дифференцировки и сокращает общие сроки подготовки культуры к трансплантации.

В настоящее время активно обсуждается вопрос о применении МСК, полученных из ЖТ, для лечения расстройств нервной системы, повреждений спинного мозга, а также возрастных нейродегенеративных заболеваний ЦНС и др. (35, 39, 40). Использование МСК из ЖТ с предварительной дифференцировкой в нейральном направлении *in vitro* и их дальнейшая алло- или аутотрансплантация гистосовместимым пациентам считается перспективным при деструкции межпозвонковых дисков, при рассеянном склерозе, травмах спинного мозга, дегенеративных изменениях периферических нервов, болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, деменции, глиобластоме, нейробластоме, ДЦП, реакции «трансплантат против хозяина» и ряде других заболеваний (1, 41).

Введение СКЖТ человека в боковой желудочек мозга крыс через сутки после инсульта заметно улучшало поведенческие функции животных уже на 7 сутки. Это сопровождалось миграцией имплантированных клеток в различные области мозга и их выживание в течение не менее 30 дней (33). Это отражает тропность СКЖТ к очагу поражения в мозге.

Изучается возможность дифференцировки СКЖТ в олигодендроциты и шванновские клетки для дальнейшего их использования в лечении болезней периферической и центральной нервной системы. На модели повреждения спинного мозга крысы показано улучшение моторных функций после внутривенной трансплантации олигодендроцитарных клеток-предшественников, полученных из СКЖТ крысы. После 4-5 недель 30-35% имплантированных клеток-предшественников олигодендроцитов выжили, активно мигрировали в область травмы и были частично дифференцированы в нейроны и олигодендроциты (42).

Показано также, что ЖТ содержит пул регенераторных СК, способных дифференцироваться в фенотип шванновских клеток, которые можно было бы применять в лечении травматических повреждений периферических нервов (43).

Ху Y. и соавторы (44) индуцировали СКЖТ крысы в нейросферы с дальнейшей дифференцировкой в нейронально- и глиальноподобные клетки, а также в шванноподобные клетки с характерными морфологическими и иммуноцитохимическими признаками. Они обнаружили также способность шванноподобных клеток эффективно индуцировать дифференцировку клеток нейробластомы SH-SY5Y предположительно за счет секреции растворимых веществ. Более того, эти клетки формировали *in vitro* миелиновые структуры нейритов клеток PC12. Это указывает на возможность использования полученных из СКЖТ

шванноподобных клеток в лечении неврологических болезней.

Куликовым А.В. с соавторами (31) изучена способность СКЖТ восстанавливать нарушенные функции мозга крыс при хорее Хантингтона, индуцированной внутрибрюшинным введением 3-нитропропионовой кислоты. Этот нейротоксин вызывает стойкий окислительный стресс и гибель нейронов базальных ядер в мозге, что ведет к развитию когнитивных расстройств, сходных с клиникой хорей Хантингтона у человека. Одноразовое внутривенное введение таким животным суспензии активированных мультипотентных МСК, полученных из ЖТ человека, снижало выраженность неврологической симптоматики, улучшало активность животных с почти полным восстановлением утраченной способности к обучению. Это подтверждено морфологически – было выявлено восстановление формы нейронов хвостатого ядра головного мозга крыс. По мнению авторов, эффективное лечение клинических проявлений при хорее Хантингтона у человека возможно также с помощью СК, полученных из собственной ЖТ пациента (31).

Lee D.H. и соавторы (45), исходя из положения о тропности НСК и МСК к опухолям головного мозга, сравнили миграционные способности НСК человека и МСК, полученных из КМ, ЖТ и пуповинной крови человека. При оценке направленной миграции НСК и МСК к глиоме ствола мозга крыс (F98) *in vivo* и *in vitro* показано, что тропная миграционная способность МСК различного происхождения подобна таковой у генетически модифицированных НСК, проявляющих терапевтическую эффективность против глиом ствола мозга. Аналогичные данные сообщили Choi S.A. и соавт. (46).

В то же время, ряд авторов напоминают о необходимой осторожности в применении терапии СК, поскольку они могут спонтанно дифференцироваться в разнородные клеточные линии *in vivo* или нежелательные типы клеток в месте имплантации (47). Так, трансплантация недифференцированных МСК в пораженный миокард может приводить к дифференцировке значительной их части в фибробласты, что усугубляет формирование рубцовой ткани и значительно снижает благоприятный результат лечения (48).

Кроме того, при системном введении СК могут оседать не только в органе-мишени, но и в тканях внутренних органов и дифференцироваться в хондроциты, адипоциты, стромальные клетки КМ, а также могут приобретать фенотип нейронов и астроцитов (49). Kang S.K. и соавторы (42) сообщили, что при внутривенном введении клеток-предшественников олигодендроцитов, полученных из СКЖТ крыс при экспериментальном повреждении спинного мозга крысы, после 4-5 недель клетки, частично дифференцировавшиеся в нейроны и

олигодендроциты, выживали и мигрировали в область травмы. В то же время, некоторые из клеток-предшественников олигодендроцитов мигрировали в ткани почек, мозга, легкого и печени по ходу венозной системы.

Наряду с этим, взрослые мультипотентные прогениторные клетки могут вовлекаться в процесс ангиогенеза растущих опухолей. Существование феномена дедифференцирования взрослых СК при длительном культивировании с приобретением ими свойств ЭСК (50), риск накопления генетических мутаций вследствие манипуляций *in vitro*, а также склонность СК к формированию гибридных клеток вследствие *fusion*-феномена говорят о том, что такие клетки после трансплантации могут являться очагом генетической нестабильности и давать начало неконтролируемому клеточному росту (51).

Таким образом, в приведенном обзоре литературы отражены основные достижения исследований биологии МСК взрослого организма. В настоящее время эта сложная многоплановая проблема переживает этап накопления экспериментальных данных, требующих подтверждения и осмысления. Важно учитывать, что наряду с перспективами применения МСК в комплексном лечении заболеваний ЦНС, возможны нежелательные последствия использования клеточной терапии и опасность неконтролируемой спонтанной дифференцировки МСК в разнородные клеточные линии. Это обосновывает необходимость дальнейших поисков в разработке ряда нерешенных вопросов в биологии МСК.

Список литературы

1. **Wilkison W.O., Gimble J.M.** Adipose tissue-derived stromal cell that expresses characteristics of a neuronal cell. US Patent 7078230, Appl.N: 09/793173, 07/18/2006.
2. **Kim S.S., Yoo S.W., Park T.S., Ahn S.C., Jeong H.S., Kim J.W., Chang D.Y., Cho K.G., Kim S.U., Huh Y., Lee J.E., Lee S.Y., Lee Y.D., Suh-Kim H.** Neural induction with neurogenin1 increases the therapeutic effects of mesenchymal stem cells in the ischemic brain. *Stem Cells* 2008, 26, 9: 2217-2228.
3. **Кругляков П.В., Лохматова Е.А., Климович В.Б., Зарицкий А.Ю.** Мезенхимные стволовые клетки и иммунопатологические состояния организма. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2006, 3, 5: 36-41.
4. **Космачёва С.М., Волк М.В., Потапнев М.П.** Стволовые клетки взрослых: проблемы получения, дифференцировки *in vitro*, перспективы клинического применения. Медицинские новости. 2008, 9: 5-9.
5. **Трактеев Д.О., Марч К.Л., Ткачук В.А., Парфенова Е.В.** Стромальные клетки жировой ткани - мультипотентные клетки с терапевтическим потенциалом для стимуляции ангиогенеза при ишемии тканей. Кардиология. 2006, 46: 53-63.
6. **Рябцева Е.С., Кривенко С.И., Левин В.И., Луц Л.С., Белевцев М.В., Усс А.Л., Змачинский В.А.** Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани: характеристика и аспекты использования при трансплантации гемопоэтических клеток. Известия НАН Беларуси. 2006, 1: 81-87.

7. **Schaffler A., Buchler Ch.** Consise Review: Adipose Tissue-Derived Stromal Cells – Basic and Clinical Implication for Novel Cell-Based Therapies. *Stem.Cells.* 2007, 25, 4: 818-827.
8. **Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H., Huang J., Futrell J.W., Katz A.J., Benhaim P., Lorenz H.P., Hedrick M.H.** Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering.* 2001, 7, 2: 211–228.
9. **Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang J.I., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., Hedrick M.H.** Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell.* 2002, 13: 4279–4295.
10. **Rehman J., Traktuev D., Li J., Merfeld-Clauss S., Temm-Grove C.J., Bovenkerk J.E., Pell C.L., Johnstone B.H., Considine R.V., March K.L.** Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation.* 2004, 109,10: 1292-1298.
11. **Wagner, W., Wein, F., Seckinger, A., Frankhauser M., Wirkner U., Krause U., Blake J., Schwager C., Eckstein V., Ansorge W., Ho A. D.** Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue and umbilical cord blood. *Exp.Hematol.* 2005, 33: 1402-1416.
12. **Oedayrajsingh-Varma M., van Ham S., Knippenberg M.** Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue-harvesting procedure. *Cytotherapy.* 2006, 8: 166-177.
13. **Smith P., Adams W.P., Lipschitz A.H.** Autologus human fat grafting: Effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte gragt survival. *Plas.Reconstr.Surg.* 2006, 117: 1836-1844.
14. **Prunet-Marcassus B., Cousin B., Caton D.** From heterogeneity to plasticity in adipose tissue: Site-specific differences. *Exp.Cell.Res.* 2006, 312: 727-736.
15. **Peptan I.A., Hong L., Mao J.J.** Comparison of osteogenic potentials of visceral and subcutaneous adipose-derived cells of rabbits. *Plast.Reconstr.Surg.* 2006, 15: 1462–1470.
16. **De Ugarte D.A., Alfonso Z., Zuk P.A., Elbarbary A., Zhu M., Ashjian P., Benhaim P., Hedrick M.H., Fraser J.K.** Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunology Letters.* 2003, 89: 267 – 270.
17. **Shi Y.Y., Nacamuli R.P., Salim A.** The osteogenic potential of adipose-derived mesenchymal cells is maintained with aging, *Plas.Reconct.Surg.* 2005, 116: 1686 – 1696.
18. **Pu L.L., Cui X., Fink B.F.** Adipose aspirate as a source for human processed lipoaspirate after optimal cryopreservation. *Plast.Reconstr.Surg.* 2006, 117: 1845-1850.
19. **Lin T.M., Tsai J.L., Lin S.D.** Accelerated growth and prolonger lifespan of adipose tissue – derived human mesenchymal stem cells in a medium using reduced calcium and antioxidants. *Stem Cells Dev.* 2005, 14: P.92-102.
20. **Chion M., Xu Y., Longaker M.T.** Mitogenic and chondrogenic effects of fibroblast growth factor-2 in adipose-derived mesenchymal cells. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 2006, 343: 644-452.
21. **Jeon E.S., Song H.Y., Kim M.R., Moon H.J., Bae Y.C., Jung J.S., Kim J.H.** Sphingosylphosphorylcholine induces proliferation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells via activation of JNK. *The Journal of Lipid Research.* 2006, 47: 653-664.
22. **Kang Y.J., Jeon E.S., Song H.Y.** Role of c-Jun N-terminal adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *J.Cell.Biochem.* 2005, 95: 1135-1145.

23. **Song H.Y., Jeon E.S., Jungs J.S.** Oncostatin M includes proliferation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Int.J.Biochem.Cell.Biol.* 2005, 37: .2357-2365.
24. **Jun E.S., Lee T.H., Cho H.H., Suh, S. Y. and Jung, J. S.** Expression of telomerase extends longevity and enhances differentiation in human adipose tissue-derived stromal cells. *Cell Physiol Biochem*, 2004, 14,4-6: 261-268.
25. **Zaragosi L.E., Ailhaud G., Dani C.** Autocrine fibroblast growth factor 2 signaling is critical for self-renewal of human multipotent adipose-derived stem cells. *Stem Cells*. 2006, 24: 2412-2419.
26. **Wang M., Crisostomo P., Herring C.** Human progenitor cells from bone marrow or adipose tissue produce VEGF, HGF and IGF-1 in response to TNF by a p38 mitogen activated protein kinase dependent mechanism. *Am.J.Physiol.Regul.Integr.Comp.Physiol.* 2006, 291: 880-884.
27. **Lin Y., Chen X., Yan Z.** Multilineage differentiation of adipose-derived stromal cells from GFP transgenic mice. *Mol.Cell Biochem.* 2006, 285: 69-78.
28. **Fujimura, J., Ogawa R., Mizuno H., Fukunaga Y., Suzuki H** Neural differentiation of adipose-derived stem cells isolated from GFP transgenic mice. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 2005, 333, 1: 116-121.
29. **Безбородов Н.С., Криевиня Г.А., Бабрыкин Д.А.** Ретиноиды: индукторы нейрогенной или адипогенной дифференцировки культуры костномозговых мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) крысы. *Цитология*. 2008, 50, 9: 795.
30. **Rivera, F.J., Sierralta W.D., Minguell J.J., Aigner L.** Adult hippocampus derived soluble factors induce a neuronal-like phenotype in mesenchymal stem cells. *Neurosci.Let.* 2006 406, 1-2: 49-54.
31. **Куликов А.В., Ржанинова А.А., Гольдштейн Д.В., Болдырев А.А** Экспрессия NMDA-рецепторов в мультипотентных стромальных клетках жировой ткани человека в условиях дифференцировки, индуцированной ретиноевой кислотой. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2007, 4: .216-220.
32. **Planat-Benard V., Silvestre J.S., Cousin B. Andre M., Nibbelink M., Tamarat R. Clergue M., Manneville C., Saillan-Barreau C., Duriez M., Tedgui A., Levy B., Pénicaud L., Casteilla L.** Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation*. 2004, 109: 656.
33. **Kang S.K., Lee D.H., Bae Y.C., Kim H.K., Baik S.Y., Jung J.S.** Improvement of neurological deficits by intracerebral transplantation of human adipose tissue-derived stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Exp.Neurol.* 2003, 183: 355-366.
34. **Sujeong J., Hyong-Ho Ch., Yong-Bum Ch., Jong-Seong P., Han-Seong J.** Functional neural differentiation of human adipose tissue-derived stem cells using bFGF and forskolin. *BMC Cell Biology*. 2010, 11, 25
35. **Anghileri, E., Marconi S., Pignatelli A., Cifelli P., Galie M., Sbarbati A., Krampera M., Belluzzi O., Bonetti B.** Neuronal differentiation potential of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2008, 17: 909-916.
36. **Лопатина Т.В., Калинина Н.И., Ревущин А.В., Беме А.А., Спирова И.А., Павлова Г.В., Парфенова Е.В.** Индукция нейральной дифференцировки стромальных клеток жировой ткани. *Клеточная трансплантология*. 2008, III, 4: 50-54.
37. **Krampera M, Marconi S, Pasini A, Galiè M, Rigotti G, Mosna F, Tinelli M, Lovato L, Anghileri E, Andreini A, Pizzolo G, Sbarbati A, Bonetti B.** Induction of neural-like

differentiation in human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, fat, spleen and thymus. *Bone*. 2007, 40, 2: 382-390.

38. **Парфенова Е.В., Ткачук В.А., Рубина К.А., Калинина Н.И., Лопатина Т.В., Павлова Г.В., Ревущин А.В.** Способ получения популяции стромальных клеток жировой ткани, индуцированных к нейральной дифференцировке. Патент на изобретение №2396345 RU, 15.12.2008.

39. **Рябцева Е.С., Кривенко С.И., Левин В.И., Луц Л.С., Белевцев М.В., Усс А.Л., Змачинский В.А.** Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани: характеристика и аспекты использования при трансплантации гемопоэтических клеток. *Известия НАН Беларуси*. 2006, 1: 81-87.

40. **Hou L, Hong T.** Stem cells and neurodegenerative diseases. *Sci.China C.Life Sci*. 2008, 51, 4: 287-294.

41. **Wilkison W.O., Gimble J.M., Vanguri P.** Adipose tissue derived stromal cells for the treatment of neurological disorders. US Patent 7582292, Appl.N: 11/286900, 09/01/2009.

42. **Kang S.K., Shin M.J., Jung J.S., Kim Y.G., Kim C.H.** Autologous adipose tissue-derived stromal cells for treatment of spinal cord injury. *Stem Cells Dev*. 2006, 15, 4: 583-594.

43. **Kingham P.J., Kalbermatten D.F., Mahay D., Armstrong S.J., Wiberg M., Terenghi G.** Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Exp.Neurol*. 2007, 207, 2: 267-274.

44. **Xu Y., Liu Z., Liu L., Zhao C., Xiong F., Zhou C., Li Y., Shan Y., Peng F., Zhang C.** Neurospheres from rat adipose-derived stem cells could be induced into functional Schwann cell-like cells in vitro. *BMC Neurosci*. 2008, 12, 9: 21.

45. **Lee D.H., Ahn Y., Kim S.U., Wang K.C., Cho B.K., Phi J.H., Park I.H., Black P.M., Carroll R.S., Lee J., Kim S.K.** Targeting rat brainstem glioma using human neural stem cells and human mesenchymal stem cells. *Clin.Cancer. Res*. 2009, 15: 4925-4934.

46. **Choi S.A., Hwang S.K., Wang K.C., Cho B.K., Phi J.H., Lee J.Y., Jung H.W., Lee D.H., Kim S.K.** Therapeutic efficacy and safety of TRAIL-producing human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells against experimental brainstem glioma. *Neuro.Oncol*. 2011, 13, 1: 61-69.

47. **Космачёва С.М., Волк М.В., Потапнев М.П.** Стволовые клетки взрослых: проблемы получения, дифференцировки in vitro, перспективы клинического применения. *Медицинские новости*. 2008, 9: 5-9.

48. **Yang S. E., Ha C. W., Jung M., Jin H. J., Lee M., Song H., Choi S., Oh, W., Yang Y.S.** Mesenchymal stem/progenitor cells developed in cultures from UC blood. *Cytotherapy*. 2004, 6, 5: 476-486.

49. **Gao J., Dennis J.E., Muzic R.F. Lundberg M., Caplan A.I.** The dynamic in vivo distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion. *Cells Tissues Organs*. 2001, 169: 12-20.

50. **Orkin S.H., Morrison S.J.** Biomedicine: stem-cell competition. *Nature*. 2002, 418: 25-27.

51. **Dawson L., Bateman-House A.S., Mueller Agnew D. Bok H., Brock D.W., Chakravarti A., Greene M., King P.A., O'Brien S.J., Sachs D.H., Schill K.E., Siegel A., Solter D., Suter S.M.** Safety issues in cell-based intervention trials. *Fertil. Steril*. 2003, 80: 1077-1085.