

Культура клеток как уникальная модель для исследования в современной биологии и медицине

Колокольцова Т.Д.^{1,2}, Сабурова И.Н.^{1,2}, Рыбаков А.С.¹

¹ — ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, д.8

² — ГБОУ ДПО РМАПО (Государственное общеобразовательное учреждение дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия последипломного образования), Москва

Культуры клеток активно используются в качестве модели для проведения широкого круга фундаментальных исследований, испытания и производства лечебных и иммунобиологических препаратов в современной биологии или медицине. Применение культур клеток в вирусологических исследованиях позволило исследовать норму и патологию поведения вирусов, определить их чувствительность к разным тканям и органам, что привело к революционным изменениям в диагностике вирусных инфекций, выделении и идентификации вирусов, обусловило открытие новых вирусов. Создание адекватных условий культивирования клеток стало основой для развития биотехнологии. Возможность изучения морфологии клеток, их ультраструктуры, культуральных и молекулярно-биологических характеристик делают уникальной модель культуры клеток для исследования токсичности веществ или испытания специфической активности лечебных препаратов и приводит к значительному сокращению числа экспериментальных лабораторных животных. Культивирование стволовых и прогениторных клеток *in vitro* дает новые данные по особенностям функционирования и метаболизма клеток, позволяет выявить ранние признаки изменения их состояния, дифференцировки и развития. Данные по трансформации клеток позволяют создать систему ранней диагностики опухолевых клеток, подобрать препараты для предотвращения или торможения процесса. Возможность выращивания клеток разных тканей и органов делает перспективным применение их в регенеративной медицине для реконструкции органов и/или поддержания их функции, учитывая этические, религиозные и правовые вопросы.

Ключевые слова: культура клеток, модель, морфология и патогенез клетки, рекомбинантные и иммунобиологические препараты, вакцины, стволовые клетки, регенеративная медицина, клеточная терапия

Развитие метода культивирования клеток животных относят к началу XX века. Впервые *in vitro* рост нервных волокон эмбриона лягушки наблюдал Harrison в 1907 г. Однако только в 40-х годах прошлого столетия были разработаны способы ферментативной обработки тканей и получения однослойных культур клеток, сконструированы первые адекватные и сравнительно доступные питательные среды [47, 48, 57]. Применение антибиотиков принципиально расширило возможности борьбы с бактериальной контаминацией при выделении и культивировании клеток [57]. В результате стало возможным получать первичные, а затем перевиваемые клеточные культуры [52].

В настоящее время культуру клеток потенциально можно получить практически из любого органа или ткани человека или животного. Для этого чаще всего используют почки, легкие, кожу, тимус, гонады эмбрионов или молодых животных, эмбриональный или фетальный материал, плаценту, ткани пуповины и пуповинную кровь [8, 11, 14, 21, 22]. Для выращивания клеток, требующих особых условий культивирования, созданы уникальные питательные среды и специальные биореакторы [16, 68].

Клетки, выращиваемые *in vitro*, свободные от влияний систем организма, всегда привлекали исследователей как уникальная модель для изучения поведения животной клетки в норме, а также в ответ на внешние или внутренние факторы. Однако наибольшее значение метод приобретает при проведении вирусологических исследований. Поскольку вирусы размножаются исключительно в живой клетке, то выращивание клеток *in vitro* позволило использовать их в качестве модели для исследования фунда-

ментальных основ нормы и патологии поведения вирусов вне и внутри клетки; определить их чувствительность к разным тканям и органам; в значительной мере облегчить и упростить методы выявления вирусов, их наработки, титрования и типирования [2, 39, 63].

Результаты многолетних исследований на модели культуры клеток привели к революционным изменениям в диагностике вирусных инфекций, выделении и идентификации вирусов, обусловили открытие новых таксономических групп вирусов, таких как аденовирусы, риновирусы, и вызвали стремительное расширение состава известных групп вирусов [39]. Известная более 50 лет линия клеток HeLa остается ценной моделью для изучения рака, различных аспектов репликации вирусов. Использование эпителиальных клеток HeLa позволило получить фундаментальные данные о репродукции вирусов, синтезе вирусных белков, структуре белков и их внутриклеточной локализации, а также интерпретировать их на поведение в первичных эпителиальных клетках бронхов или легкого, получение которых ограничено по этическим соображениям. [39].

Способность вирусов размножаться в культивированных клетках и накапливаться в больших количествах лежит в основе создания продуктов биотехнологии и позволяет не только производить культуральные вакцины, но и создавать уникальные технологии производства рекомбинантных вакцин или других иммунобиологических препаратов [1, 2, 16, 19].

Практически все известные штаммы диплоидных клеток или перевиваемые линии были получены и использо-

вались, в первую очередь, в качестве модели для исследования вирусов или как субстрат для наработки вакцинных препаратов: полиоэвакцина, против кори, краснухи, бешенства. Среди известных диплоидных культур клеток, широко применяемых зарубежными фирмами для производства вакцин, следует назвать культуры клеток MRC-5, WI-38, PER C6 [52, 69], в России — Л-68, М-22 [18]. Диплоидные культуры клеток применяют в производстве вакцин против кори, паротита, краснухи, гепатита А, осповакцины, вирусов Эбола и гриппа [74].

Перевиваемые культуры клеток животных также используют для исследований и производства вакцин. К числу наиболее часто используемых можно отнести линии клеток Vero, CV, MDCK, MDBK и многие другие. Культура клеток почки эмбриона человека HEK 293, трансформированная аденовирусом 5 типа, используется в исследованиях по получению новой вакцины против СПИДа. Перевиваемые гетероплоидные линии клеток используют для приготовления инактивированных вакцин против бешенства, полиомиелита, рекомбинантной вакцины против гепатита В, человеческого интерферона [18, 43, 60]. В Китае и Великобритании в клетках ВНК-21 получают вирус японского энцефалита, который после инактивации используют в качестве вакцины [43].

Уникальные технологии производства вакцин против гриппа и кори созданы с применением первичных, диплоидных и перевиваемых культур клеток [16, 63]. Разработаны оптимальные условия культивирования холодоадаптированных реассортантных штаммов живой гриппозной вакцины в клетках MDCK, культивируемых в ферментерах при использовании бессывороточной среды и микроносителей [63]. Дальнейшая разработка культуральной (MDCK) живой холодоадаптированной гриппозной вакцины: культивирование вакцинных штаммов в производственных ферментерах. Впервые созданы таблетированная и микрокапсулированная формы вакцин для перорального применения.

Большое преимущество использования культур клеток в исследованиях или производстве препаратов заключается в возможности создания посевных и рабочих банков клеток, культивированных на одном пассажном уровне и заложенных в ампулах на хранение при температуре жидкого азота. Создание аттестованных банков клеток позволяет иметь достаточные запасы клеток, свободных от контаминантов (микоплазм, грибов, вирусов, бактерий), стабильных по характеристикам (кариотип, продуктивность, индекс пролиферации и т.д.). Особенно важным представляется контроль безопасности клеток по отсутствию контаминантов, онкогенных и туморогенных свойств [8, 9, 11, 12, 19, 20].

Усовершенствование способов и технологий получения и культивирования первичных и диплоидных культур позволило использовать их не только в вирусологии, но и значительно расширить сферу их применения. С развитием методов генной инженерии культуры клеток стали использовать для получения высокопродуктивных штаммов-продуцентов биологически активных и лекарственных препаратов. Получены продуценты гормонов человека, интерферона, моноклональных антител, продуценты факторов, необходимых для заместительной терапии, в частности, фактора VIII свертывания крови для больных тяжелыми формами гемофилии. При создании ген-

но-инженерных вакцин в клетку встраивают фрагменты вирусного генома, кодирующие белки, создающие иммунитет при введении человеку [33].

В ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» сконструирован мутантный вариант Ade12 аденовируса человека серотипа 5, который обладает высокой степенью репликативной активности в трансформированных аденовирусом клетках 293 и р53-дефектных опухолевых клетках, но в то же время имеет существенные ограничения по репликации в нормальных клетках человека. Вышеуказанное свойство стало основой при создании антиракового лечебного препарата «Канцеролизин». Культура клеток HEK 293, используемая для наработки препарата, размножена и заложена на хранение в виде посевного и рабочих банков клеток. Клетки аттестованы в соответствии с требованиями ВОЗ. Показано, что культура клеток HEK 293 имеет высокую пролиферативную активность, типичную для данной линии морфологию; измененный кариотип человека и энзимограмму, характерную для клеток человека [19].

Высокая потребность и коммерческая значимость обусловили необходимость проведения исследований по созданию штаммов клеток-продуцентов рекомбинантного эритропоэтина человека (чЭПО). Полученные разными группами исследователей путем встраивания с помощью плазмиды гена эритропоэтина человека в геном клетки штаммы-продуценты выделяли рекомбинантный гормонф. до 20—1200 Ед (0,2—12 мкг) на мл культуральной среды [56]. Наиболее близок природному ЭПО гормон, выделяемый из лимфобластоидных клеток человека линии Namalwa, о чем свидетельствуют данные по идентичности пептидной и углеводной структур рекомбинантного и природного ЭПО [78]. Аналогичные данные позднее были получены на генно-инженерно трансформированных клетках яичников СНО [30]. В результате проведенных нами исследований был сконструирован новый рекомбинантный штамм клеток СНОрЕ, обладающий не только высокой продуктивной активностью, стабильностью конструкции и экспрессии гормона, но и отличающийся высокой специфической активностью выделяемого чЭПО. Впервые реализовалась возможность создания лекарственной формы препарата для перорального применения [27]. Действующая субстанция таблеток рчЭПО в концентрациях 0,5—10 ЕД/мл усиливает рост эритроидных колониеобразующих единиц типа КОЕ-Э в культуре интактных неприлипающих миелокариоцитов [3].

В настоящее время культуры клеток настолько широко применяются в научных и практических исследованиях в биологии и медицине, что предпринятая нами попытка систематизации наверняка не отразит все многообразие возможностей их применения. Тем не менее, анализируя собственные и данные литературы, мы попытались систематизировать возможные области применения метода. В таблице представлен перечень наук и направлений, где используются или могут быть использованы культуры клеток в качестве продуцента или модели для проведения исследований.

Одним из главных преимуществ метода культивирования клеток является возможность прижизненного наблюдения с помощью микроскопа, что делает их незаменимой моделью для проведения исследований в биологии, медицине, фармакологии или токсикологии. Для изучения нормальной и измененной морфологии клеток, их

ультраструктуры, состояния внутриклеточных органелл или межклеточного пространства создан целый парк уникального оборудования: световые, люминесцентные и электронные микроскопы (трансмиссионный, сканирующий). Привлечение молекулярно-биологических методов позволяет изучить особенности функционирования и метаболизма исследуемых клеток, выявить ранние признаки изменения их функционального состояния, дифференцировки и развития. Эффект наглядности изменений клеток, структур внутри и внеклеточного пространства, экспрессия маркеров клеток демонстрируется широким спектром специализированных красителей или антител, меченных флюорохромами.

Культуры клеток представляют собой генетически однородную популяцию клеток, растущих в постоянных условиях, и могут быть использованы для контроля **токсичности** лекарственных препаратов, детергентов, кос-

метических средств, инсектицидов, консервантов. Исследователь может изменять эти условия в определённых пределах, что позволяет ему оценивать влияние на рост клеток самых различных факторов. Интересные исследования были проведены по влиянию лазерно-индуцированной флюоресценции на модели культуры диплоидных клеток человека [31]. Метод лазерно-индуцированной флюоресценции разрабатывался для контроля состояния органа, подготавливаемого для трансплантации. Использование культивированных клеток позволило авторам подобрать оптимальные условия лазерного воздействия, не повреждающие клетки.

Клетки в культуре легко доступны для различных биохимических манипуляций, при работе с ними радиоактивные предшественники, яды, гормоны и др. могут быть введены в заданной концентрации и в течение заданного периода. Количество этих соединений может быть на по-

Таблица

Значимость метода культур клеток для научных исследований и практического применения в биологии и медицине

Область применения	Применение метода в научных исследованиях или производстве
Биотехнология	Создание новых технологий и производство диагностических, лечебных и иммунобиологических препаратов, моноклональных антител или рекомбинантных препаратов. Производство факторов или клеток для регенеративной медицины. Создание и аттестация посевных и рабочих банков высокоперспективных культур клеток.
Вирусология	Размножение, титрование и идентификация вирусов. Исследование патогенеза вирусной инфекции на модели культуры клеток разных тканей. Изучение природы вирусной трансформации клеток.
Генная инженерия	Получение штаммов клеток — продуцентов иммунобиологических и лекарственных препаратов (рекомбинантные вакцины, моноклоны, гормоны, интерфероны, канцеролизин, факторы роста и др.). Создание клеток для генной терапии или клеток, трансформированных вирусом, с заданными свойствами (НЕК 293 и др.).
Эпидемиология	Выявление возбудителя инфекции, подбор противовирусных препаратов, исследование клеток/тканей-мишеней.
Генетика	Исследования по наследованию генов, проявлению их активности на модели культуры клеток. Изучение структуры и функции ядра клеток. Клонирование. Хранение и слияние клеток. Получение генно-инженерно модифицированных клеток.
Эмбриология	Моделирование процессов эмбриогенеза выращиванием эмбрионидных телец, клеток раннего развития. Анализ молекулярных механизмов дифференцировки и репрограммирования клеток в норме и при патологическом развитии, изучение экспрессии маркеров при 2D- и 3D-культивировании. Создание индуцированных плюрипотентных клеток. Эпителиомезенхимная пластичность клеток, проблемы нормы и патологии.
Цитология	Исследование клеточных структур, апоптоза, природы трансформации клеток и др. в норме и патологии
Токсикология	Изучение токсичности радиоактивных веществ, ядов, токсичных препаратов и др.
Иммунология	Исследование механизмов иммунитета, роли клеток иммунной системы, механизмов индукции экспрессии антител, других факторов. Гибридные технологии. Создание противовирусных, противоопухолевых вакцин.
Фармакология	Производство рекомбинантных лекарственных препаратов, тестирование токсичности, безопасности, специфической активности препаратов и др.
Медицина	Создание новых методов диагностики, профилактики и лечения с помощью культивированных <i>in vitro</i> клеток разных тканей и органов человека. Восстановление ожоговых, трофических и других ран; поддержание и корректировка функции органов (печень, поджелудочная железа и др.); реконструкция тканей (костная, хрящевая, ткани сердца); восстановление функции тканей (болезнь Дюшенна, Альцгеймера и др.) в регенеративной медицине. Биоискусственные органы. Генная терапия с доставкой генов с помощью клеток. Репродуктивная медицина: гормональная поддержка и корректировка.
Онкология	Изучение молекулярных механизмов спонтанной или вирусной трансформации клеток, поведения опухолевых клеток <i>in vitro</i> , экспрессии маркеров и создание систем раннего контроля развития опухоли. Создание и тестирование противораковых препаратов, противоопухолевые вакцины.
Косметология	Алло- и ауто трансплантации клеток человека (фибробластов, МСК и др.) для коррекции косметических дефектов или возрастных изменений. Исследование эффективности и токсичности косметических препаратов на модели культуры клеток.
Эстетическая медицина	Реконструкция тканей, перспектива выращивания биоискусственных тканей для восстановления поврежденных и дефектов хрящевых, костных тканей или глубоких рубцов кожи

рядок меньше, чем при экспериментах на целом животном. Исчезает также опасность того, что исследуемое соединение метаболизируется печенью, запасается в мышечной ткани или выделяется почками.

Другая проблема связана с контролем токсичности и эффективности лекарственных препаратов в **фармакологии**. Так, известно, что около четверти лекарственных препаратов бракуются из-за низкой клинической эффективности. Многие из них демонстрируют терапевтическую активность, но оказываются токсичными, вызывают побочные эффекты или плохо метаболизируются. До того, как препараты подводятся к клиническим испытаниям, на разработку их тратятся миллионы долларов. Использование клеток, выращенных *in vitro*, позволяет значительно сократить стоимость затрат на исследования, быстрее выбрать эффективный препарат.

Серьезной проблемой остается то, что многие болезни человека не имеют аналогов у животных. В таком случае на ранних этапах контроля лекарственного препарата модель культуры клеток становится незаменимой. Возможность 3D-культивирования клеток, тканевая инженерия, нанотехнологии, совершенствование сред и лабораторного оборудования (микроскопов), совершенствование методов контроля клеток и иммунофенотипирования позволяют создавать уникальные клеточные модели для контроля или поиска новых лекарств.

В настоящее время разработаны системы изучения таких препаратов на культурах клеток, позволяющие исследовать до 40—60 тыс. препаратов в день. При использовании клеток не трудно установить концентрацию вещества и время его контакта с клетками. Это обеспечивает получение реальных значений скорости включения или метаболизма исследуемых соединений. Результаты, полученные на клеточных культурах, нельзя экстраполировать на целый организм, но не вызывает сомнений, что если то или иное вещество оказывает повреждающее действие в нескольких линиях культивируемых клеток, то следует ожидать неблагоприятного эффекта и при введении этого вещества целому животному.

Исследователи из Калифорнии разработали модель гематоэнцефалического барьера *in vitro* с использованием культивированных эндотелиальных клеток головного мозга с добавлением кондиционной среды от астроцитов и агентов, увеличивающих внутриклеточную циклическую АМФ. Результаты показали, что данная модель изменения проницаемости гематоэнцефалического барьера может быть использована для усиления проникновения лекарственных препаратов в ЦНС [66].

Известно, что абсорбция лекарств, закапываемых в глаз, ограничена. Обычно проникает только 1—7% лекарственного препарата, поскольку роговица эффективно защищает глаз. Препараты генной терапии представляют новые терапевтические возможности в **офтальмологии** и доставка их является важной. Эксперименты по доставке лекарств в глаз требуют использования как минимум 5 лабораторных животных на каждую точку разной концентрации препарата. Финский исследователь в своей докторской диссертации предложил уникальную модель культуры эпителия роговицы, пригодную для испытания фармацевтического препарата и позволяющую значительно сократить количество экспериментальных животных [70].

Культуры клеток остаются уникальной моделью для фундаментальных исследований различных патологий

тканей и заболеваний. Так, например, норвежскими исследователями созданы модели трехмерного культивирования эпителия слизистой полости рта и десен, которые могут быть использованы для изучения взаимодействия патогенных бактерий на клетки периодонтальной ткани человека [46].

В фундаментальных исследованиях и в практике одних дисциплин культура клеток резко сокращает число экспериментальных животных; в других, как в вирусологии — практически полностью их заменяет. Эксперименты, требующие для выяснения того или иного вопроса использования 100 крыс или 1000 чел., могут быть с равной статистической достоверностью поставлены на 100 культурах, выращенных на покровных стеклах. Экспресс-тесты с использованием культуры клеток экономят время, деньги и животных, позволяя при этом обходить серьезные проблемы этического, философского и морального порядка; связанные с использованием животных [15].

В настоящее время можно культивировать стволовые и прогениторные клетки из разных тканей и органов в определенных условиях, при которых они продолжают экспрессировать по крайней мере некоторые из маркеров их дифференцировки, а также моделировать некоторые процессы дифференцировки, которые случаются во время **эмбриогенеза** или взрослой жизни [21—23, 25, 26, 75]. Такие исследования позволяют получать фундаментальные данные о дифференцировке и пластичности клеток, пригодные не только для эмбриологии, но и для биологии и медицины в целом.

Английский исследователь F.M. Watt подчеркнул, что, несмотря на значительное различие клеточных типов, при рассмотрении можно определить некоторые общие свойства: стабильность дифференцированного состояния, родство (взаимоотношение) между пролиферацией и дифференцировкой, относительное значение внутриклеточного программирования и регуляции внешней среды, возможные механизмы контроля транскрипции генов, которые активизируются при дифференцировке [75]. Автор подчеркнул, что каскады активации генов, возможно, существуют, но роль негативных или позитивных регуляторных элементов некоторых отдельных генов рассматривается все более в комплексе. Следует ожидать, что именно модель культивированных клеток позволит понять или изменить взгляд на сам процесс дифференциации клеток.

Проведенные нами морфологические и ультраструктурные исследования показали, что клетки, полученные из позвоночника на стадии хондрогенной дифференцировки, в процессе культивирования сохраняют свой фенотип. Хондробласты на разной стадии дифференцировки (юные, молодые и зрелые) способны обеспечить как репаративную регенерацию, так и гомеостаз поврежденного матрикса хряща за счет синтеза протеогликанов и коллагена [6, 7].

Поведение клеток, их дифференцировка и функционирование могут исследоваться в модельных экспериментах при культивировании клеток в 2D или 3D системах [21, 24, 26]. Так, например, исследования поведения клеток сосочков кожи показали, что выращивание клеток в виде трехмерных структур (сфероидов) приводило к экспрессии клетками маркеров, близких по составу к нативным и отличающихся от таковых, экспрессируемых клетками, выращенными в условиях 2D-культивирования или монослоя [54]. По мнению авторов, метод 3D-культиви-

рования клеток становится моделью или инструментом для понимания сигнальных процессов внутри ткани и может служить для индукции, поддержания или даже ингибирования роста волос.

Выращивание клеток в трехмерной системе, позволяющее имитировать естественную структуру и функцию ткани, важно для понимания биологической природы клеток, но особенно для понимания процесса регенерации тканей и подбора состава клеток для регенеративной терапии [25, 26]. Использование ферромагнитных частиц с клетками позволяет с помощью магнитного поля формировать ткани, направленно доставлять клетки до цели. Этот подход может быть адаптирован для понимания основных биологических процессов *in vitro*, принципов тканевой инженерии и организации восстановления ткани непосредственно *in situ* [50].

В большом числе исследований, подтверждающих процесс эпителио-мезенхимного перехода, показано сходство процессов формирования или трансформации раковых клеток [44, 73]. Модель культивирования *in vitro* раковых или недифференцированных клеток позволяет изучать молекулярные механизмы данных процессов, исследовать изменения морфологии и функции клеток, экспрессию специфических маркеров. Способ выращивания многоклеточных сфероидов используется для выбора веществ, индуцирующих апоптоз раковых клеток [53].

Концепция репрограммирования клеток интригует многих исследователей и имеет, несомненно, большое научное значение и высокий терапевтический потенциал. Репрограммирование вовлекает конверсию одного дифференцированного типа клеток в другой, процесс, при котором происходит изменение профиля экспрессии генов клетки [55]. Этот процесс может быть теоретически проведен *in vitro* и привести к обратному переходу клеток в недифференцированное эмбриональное или прогениторное состояние (процесс дедифференцировки), а затем такие клетки направленно дифференцировать в нужный тип клеток [21, 37]. Возможен другой путь, когда индуцируется переход дифференцированных клеток одного типа в другой тип клеток (процесс трансдифференцировки) [37]. Репрограммирование рассматривается как перспективное направление для получения аутологичных клеток пациента, пригодных для широкого клинического применения. Метод позволит получить достаточные количества клеток для лечения и, кроме того, исключит иммунное отторжение клеток или трансплантата.

Остается серьезной проблема диагностики и лечения рака. Раковые клетки имеют мутации в сотни генов, что делает трудным определить, какие из них являются основными инициаторами. Практически невозможно анализировать роль каждой мутации, их коллективный эффект наблюдается в тканях до начала развития процесса и поведение выращиваемых *in vitro* клеток позволяет определить высокую вероятность развития рака. Например, аномальное поведение культивированных фибробластов кожи, заключающееся в аномальном их росте, а именно в неограниченности их деления, формировании островков многослойного роста, должно стать основой профилактики, диагностики и лечения онкологических заболеваний [67].

Рак является комплексным заболеванием, вовлекающим гетерогенные популяции клеток. J. Barrila с соавто-

рами создали модель биореактора, позволяющего сокультивировать разные типы клеток в виде трехмерных многоклеточных комплексов и, таким образом, повторить 3D архитектуру ткани, наблюдаемую *in vivo* [40]. Авторы полагают, что такая модель выращивания клеток может дать больше знаний, чем традиционная монослойная культура. Модель может быть пригодна для исследования клеточной биологии, межклеточного взаимодействия в опухолевой ткани. Новая модель позволит определить медицинско-биологическое значение генетических и эпигенетических изменений и их роль в развитии опухоли, резистентности к препаратам и инвазивности.

Уникальной представляется гибридная технология для получения **противоопухолевых препаратов** на основе культур клеток животных. Известны работы по клеточной инженерии и созданию моноклональных антител для диагностики различных заболеваний, на их основе разрабатываются новые подходы в терапии раковых заболеваний, связанные с адресной доставкой лекарственных веществ к клеткам опухоли [53]. Культуры клеток, трансформированные вирусом, представляют особый интерес для понимания фундаментальной природы трансформации клеток, происходящей с опухолевыми клетками [73].

Таким образом, данные, полученные на модельных исследованиях, позволят в будущем создать систему ранней диагностики зарождения опухолевых клеток, подобрать препараты для предотвращения или торможения процесса трансформации клеток. Возможность культивирования широкого спектра клеток разных тканей и органов позволит создать способы адресной доставки цитотоксичных противораковых препаратов.

Развитие и совершенствование клеточной биологии, а также открытие стволовых и других типов клеток привели к формированию совершенно нового направления клеточной и тканевой инженерии, основанного на использовании культивированных клеток человека для лечения тяжелых заболеваний человека, связанных с нарушениями функции органов, их патологией или отсутствием [10, 32, 42, 77]. **Трансплантация клеток** может стать альтернативным методом регенеративной медицины и, главным образом, спасения больных с острой недостаточностью органов. Вместо замены полного органа трансплантация определенных типов клеток может заменить поврежденные или больные клетки и, таким образом, стимулировать регенерацию или восстановление функции органа, или поддержать больных с острой недостаточностью (печеночной или почечной, например) до ожидания органа. Создание новых технологий и способов лечения с помощью клеток или их продуктов является важнейшей задачей регенеративной медицины.

Способность стволовых клеток интегрироваться в трехмерные тканевые структуры организма под контролем микроокружения реципиента делает их использование идеальным подходом для цитозаместительной терапии [42]. Известны работы американских ученых и российских специалистов по наработке мышечных клеток путем культивирования *in vitro* с последующей их трансплантацией в поврежденные мышцы при таком наследственном заболевании, как миодистрофия Дюшенна [12]. Одним из путей решения проблемы диабета I типа является трансплантация бета-клеток поджелудочной железы [77]. Рассматривается возможность корректировки последствий диабета с помощью трансплантации кле-

ток [49]. Несомненно эффективность метода при лечении сердца, мышечных тканей или эндокринных органов. Уже подтверждена высокая эффективность метода трансплантации клеток при лечении ран различной этиологии, дефектов хрящевой или костной ткани [7, 10, 12, 17, 79].

Появление в последние годы большого числа научных работ в области культивирования клеток кожи человека и успешные попытки использования этих клеток в медицинской практике показывают высокую перспективу их применения в терапии ожоговых и других ран [8, 10, 12, 35, 36].

Важнейшей задачей современной медицины остается поиск новых методов лечения или восстановления нарушений центральной нервной системы (болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона и инсульта) [45, 71]. Способность экзогенно трансплантированных стволовых и прогениторных клеток функционально интегрироваться с клетками головного мозга, заменять их или стимулировать функциональную активность эндогенных клеток и индуцировать процесс эндогенного нейрогенеза делают чрезвычайно перспективными и многообещающими исследования по трансплантации клеток [71, 64]. Например, органотипическая культура клеток сетчатки рассматривается как удобная модель для исследования миграционной активности трансплантированных клеток [29].

Метод клеточной терапии рассматривается как высокоперспективный, многие компании активно работают над созданием новых технологий получения клеточного продукта и новых способов лечения заболеваний. Созданы уникальные препараты культур клеток, прошедшие доклинические или клинические испытания [59]. Расходы на такие исследования составляют сотни миллионов долларов.

В качестве источников клеток для коррекции или лечения разных заболеваний рассматриваются как первичные клетки эмбриональных, фетальных или взрослых тканей, так и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и мезенхимные стромальные клетки (МСК) костного мозга или жировой ткани [5, 6, 14, 22, 58, 62]. Ткани, обычно уничтожаемые после хирургических процедур, могут служить дополнительным источником стволовых клеток для регенеративной медицины [4]. Чтобы ликвидировать хроническую недостачу МСК, исследователи из (США) предлагают брать их из необычного источника — из мёртвых тел [51].

Показано, что стволовые клетки эндометриального происхождения имеют большой потенциал для использования их с целью изучения свойств стволовых клеток, поиска новых факторов, определяющих дифференцировку прогениторных клеток, применения генно-инженерных технологий для реализации требуемых клеточных свойств [41]. Высокая пластичность и способность развиваться в хондрогенном, адипогенном, остеогенном, кардиогенном, нейрогенном направлениях *in vitro* под действием стимулов среды клеток эндометрия подчеркивают перспективность их использование в клинической практике для терапии различных заболеваний, возможно, неизлечимых прежде [34]. Эффекты эндометриальных стволовых клеток были изучены на экспериментальных моделях следующих патологических состояний: инфаркт миокарда, инсульт, критическая ишемия конечностей, болезнь Паркинсона [38, 76].

Сильнейший толчок развитию исследований по созданию трехмерных конструкций в тканевой инженерии дали опыты американского хирурга J. Vacanti, который трансплантировал ухо человека под кожу мыши и показал возможность решения проблемы иммунного отторжения [72]. Именно эти эксперименты позволили думать о возможности замены тканей или поврежденных органов нуждающимся пациентам. Наиболее продвинутыми стали работы по созданию «пластов» или эквивалентов кожи с культивированными клетками, пригодными для регенерации ран различной этиологии (Колокольцова Т.Д. [7, 8]; патенты [79]).

Существуют мечтатели и сторонники тканевой инженерии или создания **биоискусственного органов** из биополимеров и стволовых или дифференцированных клеток. И, хотя до этого еще очень далеко, временные конструкции с клетками внутри уже созданы [58, 65, 72]. Усилия исследователей направлены, главным образом, на поиск субстратов и материалов для культивирования, транспортировки или поддержания функциональной активных клеток [7, 17, 35, 36], а также васкуляризации сконструированных тканей [24]. Одним из уникальных направлений создания тканей или органов рассматривается способ 3D-культивирования разных типов клеток [26].

Таким образом, анализ литературы показал достаточно широкую сферу применения культивированных клеток как в научных исследованиях, так и в практике современной биологии и медицины. Культура клеток является неотделимой частью методической базы многих современных наук. Использование клеток, выращенных *in vitro*, в качестве модели исследования позволяет получить оригинальные данные по механизмам нормы и патологии дифференцировки клеток, процессам трансформации клеток, по контролю токсичности и эффективности препаратов, для типирования вирусов или исследования их патогенеза.

Эффективное конструирование питательных сред и развитие условий культивирования позволило выращивать клетки разных тканей и органов, что привело к значительному сокращению числа экспериментальных лабораторных животных, а в ряде случаев к полному отказу от их использования.

Совершенствование способов и условий культивирования клеток позволило создать ряд уникальных технологий выращивания стволовых и недифференцированных или первичных, диплоидных и перевиваемых клеток в больших количествах, а также производства на их основе вакцин, моноклональных антител, рекомбинантных препаратов.

Возможность культивирования стволовых и прогениторных из разных тканей и органов позволяет моделировать процессы дифференциации, которые случаются в эмбриогенезе или взрослой жизни. Такие исследования позволяют получать фундаментальные данные не только для эмбриологии, но и для биологии и медицины, в целом.

Несмотря на бурное развитие метода культур клеток в регенеративной медицине, большие надежды на возможность реконструкции органа или поддержания его функции, полученные обнадеживающие результаты, серьезной проблемой остаются вопросы контроля безопасности, поиска новых источников клеток, этические, религиозные и правовые вопросы.

Список литературы

1. Гендон Ю.З., Петручук Е.М., Радаева И.Ф., Графодатский А.С., Мазуркова Н.А., Гетманова Т.Н., Нечаева Е.А., Колокольцова Т.Д., Ильина Т.В., Балтуева Л.С. Создание и аттестация банков перевиваемой культуры клеток MDCK для производства гриппозной вакцины // Вопросы вирусологии. — 2005. — №2. — С. 43—46.
2. Гетманова Т.Н., Нечаева Е.А., Колокольцова Т.Д. Особенности морфологии и формирования симпластов в культурах клеток, зараженных вирусом кори // Вопросы вирусологии. — 2000. — №5. — С. 34—37.
3. Голдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В., Колокольцова Т.Д., Костина Н.Е., Минакова М.Ю., Нечаева Е.А., Поженько Н., Сандахчиев Л.С., Симанина Е.В., Хлусов И.А. Гемостимулирующие свойства таблетированной формы рекомбинантного эритропоэтина человека в эксперименте // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2000. — Т. 63, №5. — С. 37—40.
4. Еще один источник стволовых клеток 15:00 18.06.2009 <http://www.vokrugsveta.ru/news/6797/>.
5. Зайдман А.М., Сахаров А.В., Корель А.В., Ким И., Колокольцова Т.Д. Культура хондробластов человека — как возможный донорский материал для коррекции нарушений хрящевой ткани // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 2005. — №3. — С. 59—61.
6. Зайдман А.М., Сахаров А.В., Колокольцова Т.Д. Культура хондробластов как потенциальный источник для тканевой инженерии при повреждениях и заболеваниях позвоночника // Хирургия позвоночника. — 2004. — №4. — С. 115—121.
7. Колокольцова Т.Д., Болгова О.П., Радаева И.Ф. и др. Композиция на основе клеточных культур для лечения дефектов костной ткани при повреждениях воспалительной этиологии // Патент РФ №2004126519 C12N5/00. — Оpubл. 2006.
8. Колокольцова Т.Д., Нечаева Е.А., Костина Г.А. и др. Штамм диплоидных клеток человека для заместительной терапии (его варианты) // Патент РФ №2004126518 A61 K35/54. — Оpubл. 2006.
9. Колокольцова Т.Д., Сабурин И.Н. Патологические аспекты микоплазменной контаминации клеточных культур // Патогенез. — 2013. — №1. — С. 24—27.
10. Колокольцова Т.Д., Юрченко Н.Д., Колосов Н.Г., Шумакова О.В., Нечаева Е.А. Перспективы использования аттестованных фетальных фибробластов человека при лечении ран различной этиологии // Вестник РАМН. — 1998. — №3. — С. 32—35.
11. Колокольцова Т.Д., Юрченко Н.Д., Нечаева Е.А., Радаева И.Ф., Шалунова Н.В., Петручук Е.М., Бердникова З.Е., Колосов Н.Г. Получение аттестованных фибробластов человека, пригодных для научных и медицинских исследований // Биотехнология. — 2007. — №4. — С. 33—39.
12. Колокольцова Т.Д., Шалунова Н.В., Петручук Е.М. К вопросу о контроле безопасности культур клеток, пригодных для заместительной терапии // Биопрепараты. — 2006. — №2. — С. 8—12.
13. Колосов Н.Г., Ефремов А.В., Колокольцова Т.Д., Евланова Е.А., Шалунова Н.В. Опыт применения культивированных аллофибробластов при лечении ран различной этиологии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 2005. — №3. — С. 57—59.
14. Кухарчук А.Л. Перспективы и проблемы использования трансплантации клеток эмбриональной и фетальной печени для коррекции наследственной патологии / А.Л. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сирман // www.transplantology.com (04 апреля 2005).
15. Кэмпбелл А. Джиллетт Г., Джонс Г. Медицинская этика / Под ред. акад. Лопухина Ю.М. — М.: Изд-во «Гэотар-Медиа», 2005. — 395 с.
16. Маркушин С.Г., Коптяева И.Б., Гендон Ю.З., Радаева И.Ф., Нечаева Е.А., Колокольцова Т.Д., Аكوпова И.И., Мазуркова И.А. Дальнейшая разработка культуральной (MDCK) живой холодадаптированной гриппозной вакцины: культивирование вакцинных штаммов в производственных ферментерах // Вопросы вирусологии. — 2005. — №2. — С. 4—9.
17. Мелихова В.С., Сабурин И.Н., Орлов А.А., Мартиросян И.А., Репин В.С., Новикова Н.И., Мурашов А.Н. Моделирование функционального остеогенеза с использованием биодеградируемого матрикса и аутогенных стромальных клеток подкожной жировой ткани // Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия. — 2009. — Т. 4, №1. — С. 59—68.
18. Миронова Л.Л. Дальнейшие исследования перевиваемых культур клеток человека и животных для производства вирусных вакцин и диагностики / Л.Л. Миронова, О.И. Конюшко, В.Д. Попова // Вопросы вирусологии. — 2005. — Т. 50, №3. — С. 56—60.
19. Радаева И.Ф., Сергеев А.Н., Колокольцова Т.Д., Нечаева Е.А., Сергеев А.Н., Терновой В.А., Нетесов С.В. Аттестация перевиваемой культуры клеток 293, используемой для культивирования антиракового лечебного препарата «Канцеролизин» // Антибиотики и химиотерапия. — 2005. — Т. 50, №5—6. — С. 7—10.
20. Радаева И.Ф., Колокольцова Т.Д., Нечаева Е.А., Мазуркова Н.А., Ильина Т.В., Гетманова Т.Н., Балтуева Л.С., Графодатский А.С., Гендон Ю.З., Петручук Е.М. Создание и аттестация банков перевиваемой культуры клеток MDCK для производства гриппозной вакцины // Вопросы вирусологии. — 2005. — №2. — С. 43—49.
21. Репин В.С., Сабурин И.Н. Клеточная биология развития. — М.: И.С.К.Ч., 2010. — 200 с.
22. Репин В.С., Сабурин И.Н. На пути к расшифровке кодов эмбриональных стволовых клеток // Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия. — 2008. — Т. 3, №2. — С. 30—35.
23. Репин В.С., Сабурин И.Н., Сухих Г.Т. Клеточная биология фетальных тканей и фундаментальная медицина // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2007. — №3. — С. 123—133.
24. Сабурин И.Н., Горкун А. Изучение ангиогенного потенциала мультипотентных мезенхимных стромальных клеток человека // Патогенез. — 2013. — №1. — С. 65—68.
25. Сабурин И.Н., Горкун А.А., Кошелева Н.В., Семенова М.Л., Пулин А.А., Репин В.С. Сопоставление поведения стромальных клеток пупочного канатика и мультипотентных стромальных клеток взрослого костного мозга в 2-D и 3-D культуре: моделирование стромальной регенерации // Вестник новых медицинских технологий. — 2009. — №4. — С. 9—11.
26. Сабурин И.Н., Репин В.С. 3D культивирование: от отдельных клеток к регенерационной ткани (К вопросу о феномене эпителио-мезенхимальной пластичности) // Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия. — 2010. — Т. 5, №2. — С. 75—87.
27. Сандахчиев Л.С., Колокольцова Т.Д., Вараксин Н. и др. Таблетированная форма рекомбинантного человеческого эритропоэтина // Патент РФ №2182830. — БИ. — 2002. — №15.
28. Сахаров А.В., Колокольцова Т.Д., Ким И.И., Рябчикова Е.И. Изучение морфофункциональных особенностей хондробластов, полученных из пластинки роста человека, при культивировании in vitro // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2007. — №3. — С. 154—158.
29. Семенова М.Л., Сергеев С.А., Сабурин И.Н. Использование органоидной культуры сетчатки как модели для исследования миграционной активности трансплантированных клеток // Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия. — 2010. — Т. 5, №2. — С. 56—62.
30. Урманова М.А., Щелкунов С.Н., Поздняков С.Г., Колокольцова Т.Д. и др. Рекомбинантная плазмидная ДНК рКЕР-9, кодирующая эритропоэтин человека, штамм культивируемых клеток яичника китайского хомячка СНОре-9 — продуцент эритропоэтина человека // Патент РФ №97108266. — 1999. — БИ. — №1.
31. Фатгохина О., Колокольцова Т.Д., Трошкова Г.П. Оценка безопасности метода лазерно-индуцированной флюоресценции на модели культуры диплоидных клеток человека // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2007. — №4. — С. 203—206.
32. Шишкин С.С. Наследственные нервно-мышечные болезни. — ВИНТИ, 1997. — 130 с.
33. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия: Учеб. пособие. В 2 ч. — Изд-во Новосибир. ун-та, 1994. — Ч. 1. — С. 166—176.
34. Эндометрий как альтернативный источник стволовых клеток // Биомолекула. — Ноябрь. 2011 <http://biomolecula.ru/content/965/>
35. Юрченко Н.Д., Колокольцова Т.Д., Колосов Н.Г. и др. Аллотрансплантат для восстановления кожного покрова, способ его получения и способ восстановления кожного покрова при повреждениях различной этиологии // Патент РФ №2142820. — БИ. — 1999. — №35.

36. Юрченко Н.Д., Колокольцова Т.Д., Шумакова О.В. и др. Средство для лечения глубоких кожных дефектов // Патент РФ №2189223. — БИ. — 2002. — №9.
37. Agadwal S. Cellular reprogramming // *Methods in Enzymology*. — 2011. — Vol. 420. — P. 265–286.
38. Allickson J.G., Sanchez A., Yefimenko N. et al. Recent studies assessing the proliferative capability of a novel adult stem cell identified in menstrual blood // *Open Stem Cell J.* — 2011. — Vol. 3. — P. 4–10.
39. Amineva S., Aminev A., Gern J., Palmenberg A. Comparison of rhinovirus A infection in human primary epithelial and HeLa cells // *J. Gen. Virol.* — 2011. — Vol. 92. — P. 2549–2557.
40. Barrila J., Radtke A., Crabbe A. et al. Organotypic 3D cell culture models: using the rotating wall vessel to study host-pathogen interactions // *Nature Reviews Microbiology*. — 2010. — Nov. — №8. — P. 791–801.
41. Borlongan C.V., Kaneko Y., Maki M. et al. Menstrual blood cells display stem cell-like phenotypic markers and exert neuroprotection following transplantation in experimental stroke // *Stem Cells Dev.* — 2010. — Vol. 19. — P. 439–451.
42. Cai J.S., Rao M.S. Stem Cell and Precursor Cell Therapy // *NeuroMolecular Medicine*. — 2002. — Vol. 2. — P. 233–235.
43. Cartwright T. Isolation and purification of products from animal cells // *Trends Biotechnol.* — 1987. — Vol. 5, №1. — P. 25–30.
44. Cellia-Terrassa T., Meca-Cortes O., Mateo F. et al. Epithelial-mesenchymal transition can suppress major attributes of human epithelial tumor-initiating cells // *J. Clin. Invest.* — 2012. — May. — Vol. 122, №3. — P. 1849–1868.
45. Christophersen N., Correia A., Roibon L., Li J., Brundin P. Developing novel cell sources for transplantation in Parkinson disease. Contemporary Neuroscience: cell therapy, stem cells and brain repair / Ed. by C.D. Sanberg. — Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007. — P. 35–60.
46. Dabija-Wolter G., Bakken V., Cimpan M. et al. In vitro reconstruction of human junctional and subular epithelium // *J. Oral pathol. Med.* — 2013. — 42. — P. 396–404.
47. Dulbecco R., Vogt M. Some problems of animal virology as studied by plaque technique // *Cold Spring Harb. Symp. Quant Biol.* — 1953. — 18. — P. 273–279.
48. Eagle H. Nutrition Needs of Mammalian Cells in Culture // *Science*, 122, 501 (1955)
49. Gavrilova N., Saburina I., Mironov N. Stem cell therapy for the treatment of experimental diabetic retinopathy and diabetic optic neuropathy // US Patent 20090214485 A1. — August 27, 2009.
50. Grogan S., Pauli C., Chen P., Du J., Chung C., Deok Kong S., Colwell C., Lotz M., Jin S., D’Lima D. In Situ Tissue Engineering Using Magnetically Guided Three-Dimensional Cell Patterning // *Tissue Engineering*. Mary Ann Liebert, Inc. — 2012. — Part C. — Vol. 18, №7.
51. Harmzelou J. Cadaver stem cells offer new hope of life after death // <http://www.newscientist.com/article/dn23034-cadaver-stem-cells-offer-new-hope-of-life-after-death.html>. — 17:59 21 December 2012.
52. Hayflick L., Moorhead P.S. The Serial Cultivation of Human Diploid Cell Strains // *Exp. Cell Res.* — 1961. — Vol. 25. — P. 585–621.
53. Herrmann R., Fayad W., Schwarz S., Berndtsson M., Linder S. Screening for Compounds That Induce Apoptosis of Cancer Cells Grown as Multicellular Spheroids // *J. Biomol. Screen.* — 2008. — 13. — P. 1 (<http://jbx.sagepub.com/content/13/1/1>).
54. Higgins C., Richardson G., Ferdinando D., Westgate G., Jahoda C. Modelling the hair follicle dermal papilla using spheroid cell cultures // *Experimental Dermatology*. — 2010. — Vol. 19. — P. 546–548.
55. Hochedlinger K., Jaenisch R. Nuclear reprogramming and pluripotency // *Nature*. — 2006. — Vol. 441. — P. 1061–1067.
56. Jacobs K., Shoemaker Ch., Rudersdorf R. et al. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin // *Nature*. — 1985. — Vol. 313, №6005. — P. 806–810.
57. Keilova-Rodova H. The effect of aureomycin on tissue cultures // *Experientia*. — 1948. — Vol. 6, №11. — P. 428–430.
58. Kitsberg D. Human Embryonic stem cells for tissue engineering // *Methods Mol. Med.* — 2007. — Vol. 140. — P. 33–65.
59. Knutsen G., Engebretsen L., Ludvigsen N. et al. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial // *J. Bone Joint Surg. Am.* — 2004. — Vol. 86-A, №3. — P. 455–464.
60. Montagnon B.J. Polio and rabies vaccines produced in continuous cell lines a reality for Vero cell line // *Continuous Cell Lines Substrates Biol.: Proc. Symp.* — Arlington, 1989. — P. 27–47.
61. Mummery C., Wilmot I., Stolpe A., Roelen B. Stem cells: scientific facts and fiction // *Academic Press*, 2011. — 312 p.
62. Mummery C., Wilmot I., Stolpe A., Roelen B.A. Stem cells: scientific facts and fiction // *Academic Press*, 2011. — 312 p.
63. Nechaeva E.A., Mazurkova N., Kolokoltsova T. New Technology for production of live influenza vaccine // *Bioprocess International*. — 2004. — Vol. 2, №3. — P. 52–55.
64. Pankratov E.V., Ivanov A.I., Kolokoltsova T.D. et al. Cell-based therapy of chronic degenerative diseases of the central nervous system // *Tissue Engineering, Stem cell and Gene Therapies* / Ed. by Murat Elcin, Kluwer Academic/Plenum Publishers. — New York, 2003. — P. 97–105.
65. Park K.D., Kwon I.K., Kim Y.H. Tissue engineering of urinary organs // *Yonsei Med. J.* — 2001. — Vol. 41. — P. 780–788.
66. Rubin L.L., Hall D., Porter S. et al. A cell culture model of the blood-brain barrier // *J. Cell Biol.* — 1991. — Dec. — Vol. 115, №6. — P. 1725–1735.
67. Rubin L.L., Haston K.M. Stem cell biology and drug discovery // *BMC Biol.* — 2011. — Vol. 7, №9. — P. 42.
68. Ryo Ohashi, Vijay Singh, Jean-Francois P. Hamel Perfusion Cell Culture in Disposable Bioreactors. http://www.pacificgmp.com/Files/Perfusion_Cell_Culture.pdf
69. Sven G.K. Gamma Globulin Prophylaxis; Inactivated Rubella Virus; Production and Biological Control of Live Attenuated Rubella Virus Vaccines / G. Sven, S. Plotkin, K. McCarthy // *Amer. J. Dis. Child.* — 1969. — Vol. 118. — P. 17–23.
70. Toropainen E. Veli-Pekka Ranta, Kati-Sisko Vellonen, Palmgren J., Talvitie A., Laavola M., P. Suhonen, K. Mari Hamalainen, S. Auriola, A. Urtti. Paracellular and passive transcellular permeability in immortalized human corneal epithelial cell culture model // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. — 2003. — Vol. 20. — P. 2099–2106.
71. Trueman R.C., Klein A., Lindgren H. et al. Repair of the CNS Using Endogenous and Transplanted Neural Stem Cells Neurogenesis and Neural Plasticity // *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. — 2013. — Vol. 15. — P. 357–398.
72. Vacanti L.P. Tissue engineering and the road to whole organs // *British J. Surg.* — 2012. — 99. — P. 451–453.
73. Vincan E., Blabletz T., Faux M.C., Ramsay R.G. A human three-dimensional cell line model allows the study of dynamic and reversible epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transition that interprints colorectal carcinogenesis // *Cells Tissues Organs*. — 2007. — Vol. 185, №1–3. — P. 20–28.
74. Vinnedge D. Abortion industry contributes to vaccine manufacturing // <http://www.cogforlife.org/abortion-industry-contributes-to-vaccine-manufacturing.htm> (2006).
75. Watt F.M. Cell culture model of differentiation // *FASEB J.* — 1991. — Vol. 5. — P. 287–294.
76. Wolff E.F., Gao X.B., Yao K.V. et al. Endometrial stem cell transplantation restores dopamine production in a Parkinson’s disease model // *J. Cell. Mol. Med.* — 2011. — Vol. 15. — P. 747–755.
77. Wong J. Conference Assesses Potential of stem cells. Diabetes Meeting Looks at Realities of current Work // *Genetic Engineering News*. — 2004. — Vol. 24, №19. — P. 20–22.
78. Yanagi H., Ogawa I., Okamoto M. et al. Expression of human erythropoietin cDNA in human lymphoblastoid Namalwa cells: the inconsistency of a stable expression level with transient expression efficiency // *Gene*. — 1989. — Vol. 76, №1. — P. 19–26.
79. Yang E.K., Seo Y.K., Youn H.H. et al. Tissue engineered artificial skin composed of dermis and epidermis // *Artif. Organs*. — 2000. — Vol. 24. — P. 7–17.

Поступила 9.01.2013

Cell culture as a unique model for research in modern biology and medicine

Kolokoltsova T.D., Saburina I.N., Rybakov A.S.

Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, Russia, 125315, Moscow, Baltijskaya St., 8
Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

The method of cell culture is widely used as a model for a wide range of basic research, testing and production of therapeutic and immunobiological drugs in modern biology and medicine. The use of cell cultures in virology allowed to study normal and pathological behavior of viruses, to determine their sensitivity to different tissues and organs, leading to revolutionary changes in the diagnosis of viral infections, the isolation and identification of viruses that caused the discovery of new viruses. The creation of adequate conditions for cell culture was the basis for the development of biotechnology. Opportunity to study the morphology of the cells and their ultrastructure, cultural and molecular-biological characteristics make a unique cell culture model to study the toxicity of substances or testing of specific activity of therapeutic drugs and leads to a significant reduction in the number of experimental laboratory animals. The cultivation of stem and progenitor cells in vitro provides new data on the characteristics and the metabolism of the cells, can detect early signs of changes in their status, differentiation and development. The data on cell transformation, would create a system of early tumor cells diagnosis, to pick up drugs for the prevention or inhibition of the process. The possibility of growing cells of various tissues and organs makes promising their use in regenerative medicine for the reconstruction of organs and / or maintain their function, the ethical, religious and legal issues.

Key words: *cell culture model, the morphology and pathogenesis of cells-producers, recombinant and immune biological products, vaccines, stem cells, cell differentiation, regenerative medicine, cell therapy*