

Стоян ЧАКЪРОВ Румена ПЕТКОВА Румен ПАНКОВ

СТВОЛОВИ КЛЕТКИ



АКАДЕМИЧНО ИЗДАТЕЛСТВО
„Проф. МАРИН ДРИНОВ“

Stoyan CHAKAROV Rumena PETKOVA Rumens PANKOV

STEM CELLS

Monograph

Second revised and expanded edition

Sofia • 2014

Professor Marin Drinov Academic Publishing House

Стоян ЧАКЪРОВ Румена ПЕТКОВА Румен ПАНКОВ

СТВОЛОВИ КЛЕТКИ

Монография

Второ преработено и допълнено издание

СОФИЯ • 2014



АКАДЕМИЧНО ИЗДАТЕЛСТВО
„Проф. МАРИН ДРИНОВ“

Изказваме своята искрена благодарност на рецензентите за внимателния прочит на настоящия труд, за положителната им оценка и за направените полезни препоръки.

Благодарим на докторанта Борислав Арабаджиев и на д-р Ивана Роева за изработването на фотографии на стволови клетки в конкретни фази на изследвания.

Благодарим на Академичното издателство „Проф. Марин Дринов“ за осъществяването на това издание.

Благодарим на Фонд „Научни изследвания“ при Министерството на образованието, младежта и науката за дългогодишната подкрепа, която е оказвал на нашата изследователска работа, включително с реализацията на проекти № ДО02-69 и ДО-180.

Авторите



- © Стоян Александров Чакъров, Румена Димитрова Петкова, Румен Георгиев Панков, автори, 2014
- © Константин Атанасов Жеков, художник на корицата, 2014
- © Академично издателство „Проф. Марин Дринов“, 2014

ISBN 978-954-322-798-3

СЪДЪРЖАНИЕ

| | |
|---|-----|
| ОТ АВТОРИТЕ. | 9 |
| ПРЕДГОВОР. | 11 |
| ВЪВЕДЕНИЕ. | 15 |
| СПИСЪК НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ СЪКРАЩЕНИЯ. | 19 |
| I. ХРОНОЛОГИЯ НА ПО-ВАЖНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ, ДОВЕЛИ ДО ОТКРИВА- НЕТО НА СТВОЛОВИТЕ КЛЕТКИ. | 23 |
| 1. Откриване на границата на репликативно стареене на клетките. | 23 |
| 2. Откриване на капацитета за клонална експанзия на стволовите клетки. | 25 |
| 3. Откриване на свойството плурипотентност на стволовите клетки. | 28 |
| 4. Развитие на изследователската дейност върху стволовите клетки през последните години. | 32 |
| II. БИОЛОГИЯ НА СТВОЛОВИТЕ КЛЕТКИ. | 39 |
| 1. Основни характеристики на стволовите клетки. | 39 |
| 1.1. Самообновяване. | 43 |
| 1.2. Клетъчна ниша. | 46 |
| 1.3. Особености на клетъчния цикъл при стволовите клетки. | 49 |
| 1.4. Теломери и теломераза. | 64 |
| 1.5. Асиметрично делене при стволовите клетки. | 81 |
| 1.6. Асиметрична сегрегация на ДНК между дъщерните клетки. | 90 |
| 1.7. Потентност на стволовите клетки. | 95 |
| 1.8. Молекулни механизми на плурипотентността и сигнализационни пъ- тища, участващи в поддържането на недиференцираното състояние на клетката. | 98 |
| 1.9. Епигенетична регулация на хроматиновата структура в стволовите клетки. | 119 |
| 1.10. Некодиращи РНК и плурипотентност. | 127 |
| 1.11. Особености на метаболизма на стволовите клетки. | 131 |
| 1.12. Обвързване (commitment) на стволовите клетки към определен път на диференциация. | 134 |
| 1.13. Способност за вграждане в различен клетъчен контекст. | 137 |
| III. МОЛЕКУЛНИ МАРКЕРИ, ХАРАКТЕРИЗИРАЩИ НЕДИФЕРЕНЦИРАНОТО СЪСТОЯНИЕ НА КЛЕТКИТЕ. | 141 |
| 1. Oct4. | 141 |
| 2. Sox2. | 145 |
| 3. Nanog. | 146 |
| 4. Други маркери, типични за недиференцираното състояние. | 151 |

| | |
|---|-----|
| IV. ТИПОВЕ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ | 161 |
| 1. Ембрионални стволови клетки | 167 |
| 2. Ембрионални герминативни стволови клетки | 189 |
| 3. Амниотични стволови клетки | 191 |
| 4. Стволови клетки от кръв от пъпна връв | 196 |
| 5. Плацентарни стволови клетки | 206 |
| 6. Възрастни стволови клетки | 208 |
| 7. Индуцирани плурипотентни стволови клетки | 214 |
| 8. „Наивни“ и „подготвени“ стволови клетки | 220 |
| 8.1. Оказа се, че плурипотентните клетки всъщност не са „tabula rasa“ | 220 |
| 8.2. Основни различия между „наивното“ и „подготвеното“ състояние на плурипотентните клетки | 224 |
| 8.3. Особености на прехода между „наивното“ и „подготвеното“ състояние“ | 226 |
| 9. Ракови стволови клетки | 231 |
| 9.1. Понятие за „ракова стволова клетка“ | 231 |
| 9.2. Ключови компоненти на сигналните пътища при раковите стволови клетки | 235 |
| 9.3. Индукция към диференциация при ракови клетки. Индукционна терапия | 240 |
| V. КЛЕТЪЧНА ДИФЕРЕНЦИАЦИЯ И ДЕДИФЕРЕНЦИАЦИЯ | 247 |
| 1. Недиференцирано и диференцирано състояние на клетката | 247 |
| 2. Фактори, контролиращи процеса на диференциация на клетките | 251 |
| 2.1. Фактори с извънклетъчна природа | 251 |
| 2.2. Вътреклетъчни фактори | 253 |
| 2.3. Метилиране на ДНК | 256 |
| 3. Подновяване на клетките във възрастния организъм | 263 |
| 3.1. Диференциация на епидермалните клетки (включително секреторен епител) | 263 |
| 3.2. Диференциация на кръвните клетки | 274 |
| 3.3. Диференциация на мускулните клетки | 306 |
| 3.4. Диференциация на нервните клетки | 312 |
| 3.5. Диференциация на неепидермалните епителни клетки | 330 |
| 3.6. Диференциация на клетките на паренхиматозните органи | 334 |
| 4. Дедиференциация и трансдиференциация | 342 |
| VI. БАНКИРАНЕ НА СТВОЛОВИ КЛЕТКИ. ПРАВНИ, ЕТИЧНИ И РЕЛИГИОЗНИ АСПЕКТИ | 351 |
| 1. Базови дефиниции | 351 |
| 2. Типове банки за стволови клетки | 355 |
| 2.1. Типове банки за стволови клетки според вида на клетките, които получават, обработват и съхраняват | 355 |
| 2.2. Типове банки за стволови клетки според реда на използване на клетките и източника на финансиране на своите дейности | 355 |
| 3. Нормативна уредба на научно-изследователската дейност върху стволови клетки и тяхната употреба | 359 |
| 3.1. Ситуацията в България по отношение на законовата уредба за научно-изследователската дейност върху стволови клетки и тяхната употреба | 359 |
| 3.2. Банкиране на стволови клетки от кръв от пъпна връв | 363 |
| 3.3. Банкиране на „възрастни“ стволови клетки | 368 |
| 3.4. Банкиране на ембрионални стволови клетки | 369 |
| 4. Преглед на възгледите на големите световни религии върху статуса на ембрионите и фетусите като човешки същества | 379 |
| 5. Основни параметри на банкирането на стволови клетки в световен мащаб | 385 |

| | |
|---|-----|
| VII. ИМУНОЛОГИЧНА ИНДИВИДУАЛНОСТ И ИМУННО ОТХВЪРЛЯНЕ | 389 |
| 1. Исторически преглед – зараждане и развитие на трансплантационната наука | 389 |
| 1.1. Опити за кръвопреливане | 391 |
| 1.2. Опити за органна трансплантация | 394 |
| 2. Структура и функции на главния комплекс за тъканна съвместимост (МНС) | 403 |
| 2.1. Общи сведения | 403 |
| 2.2. Генетика на МНС кластера | 411 |
| 2.3. Номенклатура на HLA типове | 414 |
| 2.4. Практически основи на HLA типизацията | 418 |
| 3. Механизми на имунното отхвърляне | 425 |
| 3.1. Типове отхвърляне | 429 |
| 3.2. Механизми на разпознаване на „своето“ от чуждото“ | 435 |
| 3.3. Особености на отхвърлянето на трансплантирани тъкани и органи | 437 |
| 3.4. Имуннологично привилегирани трансплантации | 441 |
| 4. Стратегии за преодоляване на имунното отхвърляне на трансплантирани тъкани, органи и клетки | 444 |
| 4.1. Съвместимост между донора и реципиента | 444 |
| 4.2. Банки и бази данни за различни типове стволови клетки с потенциално приложение за трансплантационни цели | 458 |
| VIII. ИМУНОЛОГИЧНИ И ДРУГИ АСПЕКТИ НА ТЕРАПЕВТИЧНИТЕ ПРИЛОЖЕНИЯ НА СТВОЛОВИТЕ КЛЕТКИ | 477 |
| 1. Дозов ефект при трансплантация на стволови клетки от кръв от пълна връв | 478 |
| 2. Някои по-често срещани нежелани реакции при донори и реципиенти на клетки и тъкани | 481 |
| 2.1. Нежелани странични реакции при донорите | 481 |
| 2.2. Нежелани странични реакции при реципиентите | 482 |
| 2.3. Реакция на присадката срещу приемателя (graft-versus-host disease, GVHD) | 486 |
| 2.4. Нежелани посттрансплантационни реакции, свързани с имунния компромис у реципиента | 492 |
| 2.5. Туморигенни свойства на плурипотентните стволови клетки | 494 |
| 3. Имносупресивна терапия за лечение на различни болести и състояния при човека | 499 |
| 4. Някои по-често срещани болести и състояния при човека, асоциирани с носителство на специфични HLA типове | 511 |
| 5. Особености на съотношението на честотата на автоимунните заболявания при двата пола | 526 |
| IX. ПРИНЦИПИ НА ОРГАНИЗАЦИЯТА НА РАБОТАТА В БАНКИТЕ ЗА СТВОЛОВИ КЛЕТКИ | 533 |
| 1. Пространствена и архитектурна организация на банките за стволови клетки | 533 |
| 2. Стандарти за работа със стволови клетки и клетъчни продукти | 537 |
| 2.1. Общи изисквания на добрата производствена практика | 541 |
| 2.2. Специфични изисквания на добрата производствена практика | 543 |
| 2.3. Документиране | 575 |
| 2.4. Производство | 577 |
| 2.5. Качествен контрол | 579 |
| 2.6. Други специални изисквания към производството на лекарствени препарати за терапия, базирана на клетъчни продукти | 582 |

| | |
|---|-----|
| X. ПРОСЛЕДЯЕМОСТ В БАНКИТЕ ЗА СТВОЛОВИ КЛЕТКИ | 587 |
| 1. Дефиниции | 587 |
| 2. Идентификация на самоличността на донора | 591 |
| 3. Кой има право да дава съгласие за даряване на клетки и тъкани | 593 |
| 3.1. Получаване на съгласие за събиране на кръв от пъпна връв | 598 |
| 3.2. Получаване на съгласие за използване на човешки ембриони за научно-изследователски цели | 601 |
| 3.3. Получаване на съгласие за даряване на „възрастни“ стволови клетки | 602 |
| 4. Критерии за избор на донори | 605 |
| 5. Лабораторни изследвания на донорите | 609 |
| 6. Данни, изисквани и съхранявани от организациите, занимаващи се със събиране, банкиране и употреба на човешки клетки и тъкани | 611 |
| 7. Проследяемост на пробите и конфиденциалност на личната информация | 615 |
| 8. Проследяемост в действие: търсене на подходящ донор | 622 |
| 8.1. Подбор на съвместими донори | 622 |
| 8.2. В търсене на HLA-съвпадение: колко единици трябва да има в една банка, за да има шанс да бъде намерен съвместим донор | 631 |
| XI. ПРИЛОЖНИ АСПЕКТИ НА ПОЗНАНИЯТА ЗА КЛЕТЪЧНАТА ДИФЕРЕНЦИАЦИЯ И ТРАНСДИФЕРЕНЦИАЦИЯ ЗА ЦЕЛИТЕ НА РЕГЕНЕРАТИВНАТА МЕДИЦИНА | 643 |
| 1. Как да накараме стволовите клетки да произведат конкретно необходимия клетъчен тип | 644 |
| 2. Дедиференциация и трансдиференциация на стволови клетки за лечение на болести при човека | 652 |
| 3. Намаляване на туморигения потенциал на плурипотентните стволови клетки | 656 |
| 4. Вектори за пренос на геномни фрагменти в стволови и диференцирани клетки | 657 |
| XII. СЪВРЕМЕННО СЪСТОЯНИЕ НА НАУКАТА И МЕДИЦИНАТА ПО ОТНОШЕНИЕ НА ПРИЛОЖЕНИЕ НА ТЕРАПИЯТА СЪС СТВОЛОВИ КЛЕТКИ | 673 |
| 1. Лечение със собствените стволови клетки – осигуряване за бъдещето или богата почва за спекулации | 675 |
| 1.1. Лечение на наследствени заболявания със собствени стволови клетки | 676 |
| 1.2. Лечение на ракови заболявания със собствени стволови клетки | 677 |
| 1.3. Състояние на науката и медицината по отношение на лечение на конкретни заболявания и състояния | 682 |
| 2. Научна измама и непрофесионално поведение в областта на трансплантационната наука и изследванията върху стволовите клетки | 716 |
| 2.1. Разлика между непрофесионално поведение в науката и научна измама | 716 |
| 2.2. „Шахматната мишка“ – най-простият пример за научна измама | 718 |
| 2.3. Фабрикуването на експериментални данни също е прост и ефективен метод за извършване на научна измама | 719 |
| 2.4. Потенциално влияние на големите фармацевтични компании | 721 |
| 2.5. Представяне на неверни експериментални резултати вследствие на случайни или системни грешки | 723 |
| 2.6. Клетъчна терапия, която убива | 725 |
| 2.7. Недобросъвестно и/или неправилно използване на възможностите на клетъчната терапия | 729 |
| РЕЧНИК НА ТЕРМИНИТЕ | 737 |
| АНОТАЦИЯ (НА БЪЛГАРСКИ ЕЗИК) | 746 |
| АНОТАЦИЯ (НА АНГЛИЙСКИ ЕЗИК) | 747 |
| СЪДЪРЖАНИЕ (НА АНГЛИЙСКИ ЕЗИК) | 748 |

ОТ АВТОРИТЕ

Вече десетилетие за стволите клетки говорят и пишат всички – специалисти в областта на биологията и медицината, здрави и болни хора, „безнадеждни пациенти“, семейства, очакващи дете; юристи, теолози, журналисти – цялото общество.

Дискусиите, свързани със стволите клетки са на всички нива и във всички общности – в семейството, в кварталното заведение, в болничните стаи и лекарските кабинети, в университетските аудитории, в специализираните в тази област професионални среди и форуми, в парламентите на държавите и междудържавните съюзи, в структурите на различните вероизповедания, в медиите. Произнасят се крайно или предпазливо, компетентно или некомпетентно, обикновени хора, президенти, религиозни лидери, специалисти и неспециалисти.

За едно десетилетие стволите клетки станаха универсален „шлагер“ в медико-биологическото познание, здравепазването и медицинските биотехнологии. При това без да са ново откритие. Първите наблюдения върху феномена (разбира се, без ясното му дефиниране) са извършени преди над пет десетилетия, а „официалното им откриване“ е преди четиридесет години. Нобелови награди, пряко свързани със стволите клетки бяха присъдени през 2007 и 2012 г. и, както често се случва с Нобеловите награди, тяхното присъждане просто ознаменува постиженията от едно продължително развитие, за което са допринесли много изследователи. Самите откриватели на феномена „стволовост на клетките“ не получиха Нобелова награда.

Динамиката в развитието на направлението „стволите клетки“ е една от най-високите в света спрямо стотиците други направления. И това може би е защото никога няма „най-високо“.

В подобна ситуация да напишеш и издадеш монография, посветена на стволите клетки наистина е предизвикателство.

Направлението „стволите клетки“ е комплексно и мултидисциплинарно. Това предполага много високи изисквания към монографичното му обхващане. Необходим е системен анализ на няколко области в съвременната биология, медицина, здравепазване и биотехнологии. Необходи-

дими са и преглед и оценки върху моралните, юридическите, религиозните и социалните аспекти.

Динамиката в развитието на направлението „стволови клетки“ е толкова висока, че информационният поток, свързан с него и дори нагласите на специализираната научна общност и на обществото се изменят по-бързо от времето за написване и издаване на монографичен труд.

Работихме теоретично и експериментално; колебаехме се, връщахме се назад и отново анализирахме най-съвременното и, разбира се, най-утвърденото. В крайна сметка решихме, че при наличие на хиляди текстове в тази област, които за съжаление често са фрагментарни, а нерядко не са и достатъчно професионално издържани, едно специализирано монографично издание е необходимо – както за развитие на самото направление, така и за подпомагане на развитието на обществената рефлексия върху него.

Така или иначе, тази книга е пред Вас, евентуалните читатели – специалисти и просто интересувачи се. Ние оставаме с надеждата трудът ни да е полезен.

м. февруари 2014 г.

Авторите

ПРЕДГОВОР

от проф- д-р Иво Кременски

*Omne vivum ex ovo*¹. Този полу-емпиричен, полу-метафизичен принцип, дефиницията и първата употреба на който са приписвани на ренесансовия лекар Уилям Харвей, всъщност сумира накратко биомедицинската наука от зараждането ѝ до наши дни. В крайна сметка, всяка клетка произхожда от друга клетка, както и всяко живо същество е произлязло от зародиш. От тази гледна точка стволите клетки са уникални както по своята биология, така и по своята клетъчна съдба.

От една страна, изчерпването на стволовоклетъчните ниши на организма – поради естествено остаряване или под действие на увреждащи фактори на външната среда – означава неминуема смърт на организма. От друга страна, обаче, особените свойства на недиференцираните клетки, които ги правят практически „безсмъртни“, залагат имплицитно риска от развитие на раков процес. Деликатният баланс между тези два сценария всъщност формира това, което популярно, и често доста безгрижно наричаме „здраве“. Настоящата монография изчерпващо анализира факторите, които формират, подкрепят или нарушават този баланс през време на живота на индивида във физиологични или патологични условия, както и основите на възможностите за регулирането му.

Монографията представя и изследва както хода на процеса на откриване на свойството „стволовост“, така и особеностите на биологията на стволите клетки и закономерностите, по които протича техният жизнен цикъл.

Изясняването на интимните механизми на процеса на вземане на решение в коя посока ще се насочи съдбата на потомството на една стволена клетка разкрива пътя за подтикване на недиференцирани клетки към един или друг път на развитие и за манипулиране на особеностите на диференциращата се клетка, така че да се получи клетъчна популация с точно определени свойства. Настоящата монография предлага задълбочен анализ на биологичните фактори, които играят роля във формиране-

¹ „Всяко живо (нещо се ражда) от яйце“.

то на „стволовостта“ и процеса на клетъчно диференциране до различни клетъчни типове. Представени са различни класификации на недиференцираните клетки въз основа на техните свойства и потенциал за диференциация. Изчерпателно се описват и възможностите и недостатъците, свързани с практическото приложение на всеки клетъчен тип за изследователски и терапевтични цели. Формулира се свойството потентност на стволовите клетки като тяхна дефинираща характеристика и се очертават източниците и възможностите за получаване на плурипотентни, мултипотентни и олигопотентни стволови клетки.

Самата плурипотентност вече не е прерогатив само на ембрионалните стволови клетки. Развитието на възможностите за дедиференциация и трансдиференциация откри нови пътища и възможности, които са задълбочено и прецизно анализирани и развити в текста. Ясно е очертан пътът към изготвяне на трансплантационни продукти, основан на манипулиране на клетки, включително стволови, като не са заобиколени и нерешените проблеми в това отношение.

Трансплантацията на клетки и тъкани е един от най-ефективните методи за лечение на редица доскоро нелечими и много тежки състояния, като например хематологичните тумори, а също и някои солидни тумори. Намирането на съвместим донор, обаче, представлява сериозен проблем, който може да провали една иначе обещаваща и обикновено надеждна терапия. В настоящата монография са описани подробно основните биологични особености, управляващи тъканната съвместимост, описани са базите данни за търсене на съвместими донори и реципиенти и са очертани базовите параметри на алгоритмите за търсене. Отделено е подобаващо внимание на критериите за избор на донори (етични съображения, включително и такива, които излязоха на преден план съвсем наскоро, като например създаването на „бебета-спасители“ на болни от тежки болести деца, микробиологичния и вирусологичния контрол, HLA-типизирането и пр.) и е представен логическият път на движение на пробите от клетки и тъкани от донора до лабораторията, банкиращата институция, и, в крайна сметка, до реципиента, който има нужда от тях. Описани са по-често срещаните нежелани реакции у донорите и реципиентите на клетки и клетъчни препарати и накратко са изложени основните принципи на имunosупресивната терапия. Предвиден е и кратък, но изчерпателен анализ на основите на някои наследствено обусловени състояния, свързани с носителство на определени имунологични типове.

Тъй като авторите от години реално работят и експериментално със стволови клетки, монографията съдържа и много информация „от кухня-

та“ на получаването, анализирането, поддържането на плурипотентност и манипулирането на стволови клетки и изготвянето на клетъчни продукти. Читателите ще намерят отговор на въпроси като: какво се случва със събраната след раждането кръв от пъпна връв или с дарените за изследователски цели ембриони и дарени клетки; основателно ли е твърдението на банкиращите институции, че пробата ще бъде достъпна и годна за използване във всеки един момент; възможно ли е и препоръчително ли е да се използват такива продукти, без клетките да са предварително насочени към определен път на развитие; как се осигурява проследяемостта в клетъчните банки; конфиденциалността на личната информация; и как се минимизира риска от неоторизирано използване на материалите или използването им за цели, които дарителят не е разрешил.

От момента на откриването на свойството стволовост, изследователите прозряха огромния потенциал, който крият в себе си стволовите клетки и въодушевено започнаха да разработват методи и подходи за „впрягане“ на този потенциал в служба на изследователската дейност, медицината и здравеопазването. Разбира се, не се мина и без грешки – било поради липса на достатъчно информация за свойствата на недиференцираните клетки, било поради недооценяване на свързаните рискове, било просто поради искреното желание да се получи по-бързо окуражителен резултат. Както знаем, грешки от този тип се случиха преди години дори и в нашата страна. Мисля, че това, обаче, не бива да се превръща в спиралка на напредъка, който науката и медицината реално бележат в областта на стволовите клетки и техните приложения за изучаване на различни процеси на ниво клетка, тъкан и организъм, за лечение на болести и контрол върху различни състояния при човека. Настоящата монография съдържа отделна глава, посветена на рисковете от злоупотреба с доверие както в изследователските среди, така и в медицинската практика, и дава прецизна оценка на настоящото състояние в направлението по възловия въпрос – кога и къде е възможно да се окаже реална помощ за решаване на изследователски и/или медицински проблем. И докато част от случаите на медицинска измама, които са описани звучат комично, веселостта на читателя мигом изчезва, когато осъзнае какви сериозни последствия би могло да има, ако всеки от тези случаи не е бил своевременно изобличен.

Познавам авторите и тяхната изследователска дейност от много години. Те са водещи специалисти в областта на молекулярната и клетъчна биология; молекулярната медицина и медицинските биотехнологии. Разпознати и утвърдени са както в национален, така и в международен план.

Изключително високата им професионална квалификация, дългогодишният им личен опит в областта, общата им биологична, медицинска и биотехнологична ерудиция, отговорността им към истината в биомедицинската наука и адекватната оценка за възможното към конкретния момент са довели до създаване на една наистина уникална монография в направлението „стволови клетки“. Това може би не е странно, като се има предвид успехът на монографията „ДНК поправка“, издадена също от Издателство на БАН преди три години, към която настоящият авторски колектив има пряко отношение.

Сравнително рядко се случва човек да попадне на научна литература, която съчетава едновременно стремеж към правдивост и разглеждане на всички гледни точки; исторически преглед на събитията и факторите, довели до някое откритие и представяне на най-новите изследвания в областта; поднасяне на информацията в детайл, където е необходимо и обобщаване, където има нужда от това; и поднасяне на „сухата“ и понякога плашещо безпристрастна изследователска и медицинска информация така, че читателят, независимо доколко е специалист в областта, да може да разбере и осмисли фактологията, характеризираща натрупаните познания в областта на науката за стволовите клетки и техните потенциални приложения. При това, това е научна литература, написана на отличен български език, така че научните термини да станат разбираеми дори за неспециалисти.

Лично аз смятам, че такава книга беше нужна много отдавна както в българското, така и в световното научно пространство. Убеден съм, че настоящото издание на български език ще има голям успех в нашата страна, а бъдещото ѝ издаване на английски език ще я направи търсена във всички страни, в които се развива направлението „стволови клетки“.

Монографията „Стволови клетки“, без съмнение, ще бъде полезна за специалистите в тази област и ще подпомогне развитието на направлението в България. Също така считам, че ще бъде от полза за студенти и неспециалисти и ще допринесе съществено за една по-адекватна обществена оценка на случващото се в нашата страна в това направление.

м. март 2014 г.

Проф. д-р Иво Кременски

TABLE OF CONTENTS

| | |
|---|-----|
| TABLE OF CONTENTS (in Bulgarian) | 9 |
| AUTHORS' PREFACE | 11 |
| PREFACE | 15 |
| LIST OF ABBREVIATIONS USED IN THE TEXT | 19 |
| I. TIMELINE OF THE IMPORTANT RESEARCH EVENTS THAT BROUGHT ABOUT THE DISCOVERY OF THE STEM CELLS | 23 |
| 1. Discovery of the phenomenon of replicative senescence | 23 |
| 2. Discovery of the capacity for clonal expansion of stem cells | 25 |
| 3. Discovery of the pluripotent properties of stem cells | 28 |
| 4. Basic trends in stem cell research in the recent years | 32 |
| II. STEM CELL BIOLOGY | 39 |
| 1. Basic properties of stem cells | 39 |
| 1.1. Capacity for self-renewal | 43 |
| 1.2. Cell niche | 46 |
| 1.3. Specific features of the cell cycle in stem cells | 49 |
| 1.4. Telomeres and telomerase | 64 |
| 1.5. Asymmetric division in stem cells | 81 |
| 1.6. Asymmetric segregation of DNA between daughter cells | 90 |
| 1.7. Potency of stem cells | 95 |
| 1.8. Molecular mechanisms of pluripotency and signalling pathways involved in the maintenance of the undifferentiated state | 98 |
| 1.9. Epigenetic regulation of chromatin structure in stem cells | 119 |
| 1.10. Non-coding RNA and pluripotency | 127 |
| 1.11. Special features of metabolism of stem cells | 131 |
| 1.12. Commitment to differentiation along a specific lineage | 134 |
| 1.13. Capacity for integration in different cell context | 137 |
| III. MOLECULAR MARKERS OF THE UNDIFFERENTIATED STATE | 141 |
| 1. Oct4 | 141 |
| 2. Sox2 | 145 |
| 3. Nanog | 146 |
| 4. Other markers associated with the undifferentiated state | 151 |
| IV. TYPES OF STEM CELLS | 161 |
| 1. Embryonic stem cells | 167 |
| 2. Embryonic germinal stem cells | 189 |
| 3. Amniotic stem cells | 191 |
| 4. Stem cells from cord blood | 196 |

| | |
|--|------------|
| 5. Stem cells from placenta | 206 |
| 6. Adult stem cells | 208 |
| 7. Induced pluripotent stem cells | 214 |
| 8. “Naïve” and “primed” pluripotent stem cells | 220 |
| 8.1. The concept of “tabula rasa” | 220 |
| 8.2. Basic differences between the “naïve” and the “primed” state | 224 |
| 8.3. Features of the transition between the “naïve” and the “primed” state | 226 |
| 9. Cancer stem cells | 231 |
| 9.1. The concept of cancer stem cells | 231 |
| 9.2. Key components of the signalling pathways in cancer stem cells | 235 |
| 9.3. Induction of differentiation in cancer cells. Induction therapy | 240 |
| V. CELL DIFFERENTIATION AND DEDIFFERENTIATION | 247 |
| 1. The undifferentiated vs. the differentiated state | 247 |
| 2. Factors controlling cell differentiation | 251 |
| 2.1. Extracellular factors | 251 |
| 2.2. Intracellular factors | 253 |
| 2.3. DNA methylation | 256 |
| 3. Renewal of the cells in adult organism | 263 |
| 3.1. Differentiation of epidermal cells and cells of the secretory epithelium | 263 |
| 3.2. Blood cells differentiation | 274 |
| 3.3. Muscle cells differentiation | 306 |
| 3.4. Neural cells differentiation | 312 |
| 3.5. Differentiation of non-epidermal epithelial cells | 330 |
| 3.6. Differentiation of the cells of the parenchymatous organs | 334 |
| 4. Dedifferentiation and transdifferentiation | 342 |
| VI. BANKING OF STEM CELLS. LEGAL, ETHNICAL AND RELIGIOUS ASPECTS OF STEM CELL BANKING | 351 |
| 1. Basic definitions | 351 |
| 2. Types of stem cell banks | 355 |
| 2.1. Types of stem cell banks with regard to the types of the cells they extract, process and store | 355 |
| 2.2. Types of stem cell banks with regard to the access to the banked cells and the sources of financing of their activities | 355 |
| 3. Legislation concerning stem cell research and their possible uses | 359 |
| 3.1. Legal aspects of stem cell research and banking in Bulgaria | 359 |
| 3.2. Banking of stem cells from cord blood | 363 |
| 3.3. Banking of adult stem cells | 368 |
| 3.4. Banking of embryonic stem cells | 369 |
| 4. Review of the opinions of the major religions of the world about the status of the embryos and fetuses as human beings | 379 |
| 5. Basic parameters of stem cell banking worldwide | 385 |
| VII. IMMUNOLOGICAL IDENTITY AND IMMUNE REJECTION | 389 |
| 1. Brief history of transplantation science | 389 |
| 1.1. First attempts at blood transfusion | 391 |
| 1.2. First attempts at organ transplantation | 394 |
| 2. Structure and functions of the major histocompatibility complex | 403 |
| 2.1. Basic definitions | 403 |
| 2.2. Genetics of the MHC cluster | 411 |
| 2.3. Nomenclature of the HLA types | 414 |

| | |
|---|------------|
| 2.4. Basics of HLA typing | 418 |
| 3. Mechanisms of immune rejection | 425 |
| 3.1. Types of immune rejection | 429 |
| 3.2. Mechanisms of recognition of “self” from “non-self” | 435 |
| 3.3. Types of rejection of transplanted tissues and organs | 437 |
| 3.4. Immunologically privileged transplantations | 441 |
| 4. Strategies for overcoming immune rejection of transplanted cells, tissues and organs | 444 |
| 4.1. Donor-recipient compatibility | 444 |
| 4.2. Data banks and databases for different types of stem cells intended for use for transplantation purposes | 458 |
| VIII. IMMUNOLOGICAL AND OTHER ASPECTS OF THE POTENTIAL THERAPEUTIC APPLICATIONS OF STEM CELLS | 477 |
| 1. Dose effect in transplantations of haematopoietic stem cells from cord blood | 478 |
| 2. Common adverse reactions in donors and recipients of cells and tissues | 481 |
| 2.1. Adverse reactions in the donors | 481 |
| 2.2. Adverse reactions in the recipients | 482 |
| 2.3. Graft-versus-host disease (GVHD) | 486 |
| 2.4. Adverse post-transplant events related to the immune compromise in the recipient | 492 |
| 2.5. Tumorigenic properties of the embryonic stem cells | 494 |
| 3. Immunosuppressive therapy for human disease | 499 |
| 4. Common human diseases and conditions associated with carriership of specific HLA types | 511 |
| 5. Male-to-female ratio of the incidence of common autoimmune diseases in man | 526 |
| IX. BASIC PRINCIPLES OF ORGANISATION OF STEM CELL BANKS | 533 |
| 1. Spatial and architectural organisation of stem cell banking facilities | 533 |
| 2. Standards for work with stem cells and cell products | 537 |
| 2.1. Basic requirements of the Good Manufacturing Practice (GMP) | 541 |
| 2.2. Specific requirements of the Good Manufacturing Practice(GMP) | 543 |
| 2.3. Documentation | 575 |
| 2.4. Manufacturing | 577 |
| 2.5. Quality control | 579 |
| 2.6. Other specific requirements in the manufacturing of medicinal products for cell therapy in humans | 582 |
| X. TRACEABILITY IN STEM CELL BANKS | 587 |
| 1. Basic definitions | 587 |
| 2. Identification of donor identity | 591 |
| 3. Capacity to give consent for donation of cells and tissues | 593 |
| 3.1. Obtaining consent for collection of cord blood | 598 |
| 3.2. Obtaining consent for use of human embryos for research purposes | 601 |
| 3.3. Obtaining consent for donation of adult stem cells | 602 |
| 4. Selection criteria for donors | 605 |
| 5. Laboratory tests for prospective donors | 609 |
| 6. Dataset required by the organisations dealing with collection, banking and use of human cells and tissues for research or applied purposes | 611 |
| 7. Traceability of samples and confidentiality of personal data | 615 |
| 8. Traceability at work: searching for a compatible donor | 622 |

| | |
|--|------------|
| 8.1. Selection of donor-recipient pairs | 622 |
| 8.2. In search of a match - how many units in a bank? | 631 |
| XI. APPLIED ASPECTS OF THE CURRENT KNOWLEDGE ABOUT CELLULAR DIFFERENTIATION AND TRANSDIFFERENTIATION FOR THE PURPOSES OF THE REGENERATIVE AND REPARATIVE MEDICINE | 643 |
| 1. How to make the stem cells produce a specific cell type | 644 |
| 2. Dedifferentiation and transdifferentiation of stem cells for treatment of human | 652 |
| 3. Decreasing the tumorigenic potential of pluripotent stem cells | 656 |
| 4. Vehicles and vectors used for transfer of genomic fragments in stem cells and in differentiated cells | 657 |
| XII. THE STATE OF ART IN THE FIELD OF STEM CELLS WITH REGARD TO THE POSSIBLE THERAPEUTIC APPLICATIONS | 673 |
| 1. Using one's own stem cells for treatment of disease - providing for the future or a fertile ground for speculation? | 675 |
| 1.1. Using autologous stem cells for treatment of genetic disease | 676 |
| 1.2. Using autologous stem cells for treatment of cancer | 677 |
| 1.3. Present possibilities for use of stem cells in the treatment of defined diseases and conditions | 682 |
| 2. Scientific fraud and professional misconduct in the field of transplantation research and stem cell science | 716 |
| 2.1. Basic differences between professional misconduct in science and scientific fraud | 716 |
| 2.2. The case of the patchwork mouse as an example of the simplest way to cheat in science | 718 |
| 2.3. Fabrication of research data is another simple yet effective method | 719 |
| 2.4. Potential interference of large pharmaceutical companies | 721 |
| 2.5. Use of research data produced by accidental or systematic error | 723 |
| 2.6. Cell therapy that can kill you | 725 |
| 2.7. Dishonest and/or inadequate uses of cell therapy | 729 |
| GLOSSARY OF TERMS | 737 |
| SUMMARY (IN BULGARIAN) | 746 |
| SUMMARY (IN ENGLISH) | 747 |

СТОЯН ЧАКЪРОВ РУМЕНА ПЕТКОВА РУМЕН ПАНКОВ

СТВОЛОВИ КЛЕТКИ

Българска
Второ преработено и допълнено издание

Рецензенти:
акад. Камен Куманов
проф. д-р Иво Кременски
проф. д-р Николай Желев

Научен редактор:
проф. д-р Елена Георгиева

Художник на корицата: Константин Жеков

Формат 167×237 mm Печатни коли 47

Печатница на Академично издателство „Проф. Марин Дринов“
София 1113, ул. „Акад. Георги Бончев“, бл. 5

Цена 30 лв.

www.baspress.com

ISBN 978-954-322-798-3