

УДК: 615.37: 616.5-002.525.2+57.086.833.4

DOI: 10.14427/jipai.2020.2.26

Получение и применение в медицине пулированных мезенхимальных стволовых клеток

Е.Г. Рында, Н.Г. Антоневиц, А.Е. Гончаров

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск

Acquisition and medical application of pooled mesenchymal stem cells

E.G. Rynda, N.G. Antonevich, A.E. Goncharov

The Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Science of Belarus, Minsk, Belarus

Аннотация

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) прочно зарекомендовали себя в качестве клеточного продукта для лечения обширного спектра заболеваний. Однако существуют ограничения использования аутологичных МСК, связанные с невозможностью накопления достаточного количества клеточной биомассы от одного донора, а также абберантными свойствами клеток, полученных от больных людей. Также проблемой является обширная индивидуальная гетерогенность свойств и характеристик МСК разных доноров. В последние годы появляется все больше данных о том, что пулированные культуры аллогенных МСК (пулМСК) обладают более выраженными и стабильными иммуномодулирующими свойствами, в сравнении с МСК, полученными от одного донора. Благодаря их доказанному иммуномодулирующему и регенеративному потенциалу, а также безопасности и хорошей переносимости, применение пулМСК в медицине выглядит перспективным.

Целью данной статьи было изучение существующих на данный момент литературных данных, в которых описаны морфологические, функциональные и иммунофенотипические свойства пулированных культур МСК, а также опыт их применения в доклинических исследованиях.

Ключевые слова

Стволовые клетки, пулированные культуры, пулированные мезенхимальные стволовые клетки, клеточная терапия

Summary

Mesenchymal stem cells (MSCs) have long been considered as a cell product for treatment of a wide range of pathology. However, there are limitations to use of autologous MSCs associated with the impossibility of accumulating a sufficient amount of cellular biomass from a single donor, as well as aberrant characteristics of cells obtained from patients. Another problem is the extensive individual heterogeneity of properties and characteristics of MSCs of different donors. In recent years, more and more evidence has appeared that pooled cultures of allogeneic MSCs (poolMSC) have more pronounced and stable immunomodulating properties, compared with MSCs obtained from a single donor. Due to their proven immunomodulatory and regenerative potential, as well as safety and good tolerance, the use of poolMSC in medicine looks promising.

The purpose of this article was to study the currently available data that describe the morphological, functional and immunophenotypic properties of the pooled cultures of MSCs, as well as the experience of their application in preclinical studies.

Keywords

Stem cells, pooled cultures, pooled mesenchymal stem cells, cell therapy

Введение

МСК являются идеальной основой для клеточной терапии различных заболеваний благодаря их иммуносупрессивным и регенерирующим свойствам. МСК могут быть получены из различных источников, таких как костный

мозг, жировая ткань, пуповинная кровь, пульпа зуба, обонятельная выстилка. Вне зависимости от происхождения, все МСК, применяемые для клеточной терапии должны соответствовать следующим критериям, введенным Международным обществом клеточной терапии: фибробластопо-

добная морфология, адгезия на культуральной поверхности с образованием монослоя, экспрессия CD105, CD73 и CD90 и отсутствие молекул CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79a или CD19 и главного комплекса гистосовместимости 2 типа, дифференцировочный потенциал в остео-, адипо-, хондрогенном направлениях [1].

Способность подавлять функцию системы иммунитета путем влияния на иммунокомпетентные клетки позволяет рассматривать МСК в качестве лечебного средства для терапии заболеваний, ассоциированных с иммунным ответом. Первые попытки лечения пациентов с аутоиммунными заболеваниями с помощью аутологичных МСК начали проводиться еще в 2000-х годах. И хотя была показана безопасность терапии, выраженный клинический эффект наблюдался не во всех случаях [2,3]. Это может быть связано с тем, что МСК, полученные от пациентов с системными воспалительными заболеваниями, имеют aberrantный фенотип, нетипичную морфологию и характеризуются низкой пролиферативной и иммуносупрессивной активностью [4]. В этом случае могут быть использованы аллогенные МСК (алл-МСК), полученные от здоровых доноров.

Преимущество использования алл-МСК заключается еще и в том, что это дает возможность получать клетки с нормальными фенотипическими, морфологическими и функциональными характеристиками. Их безопасное применение является возможным благодаря отсутствию на поверхности клеток молекул главного комплекса гистосовместимости (human leukocyte antigen - HLA) типа II и практически полному отсутствию HLA типа I [5].

В последние годы появляется все больше данных о том, что пулированные культуры аллогенных МСК (пулМСК) обладают более выраженными и стабильными иммуномодулирующими свойствами, в сравнении с алл-МСК, полученными от одного донора.

Таким образом, применение пулМСК в медицине выглядит перспективным благодаря их доказанному иммуномодулирующему и регенеративному потенциалу, а также безопасности применения.

Перспективы и проблемы использования мезенхимальных стволовых клеток в качестве биомедицинского клеточного продукта

Можно с уверенностью говорить о том, что мультилинейный потенциал МСК позволяет

считать эти клетки применимыми в тканевой инженерии для восстановления поврежденных тканей организма. Также, благодаря антиапоптотическим и цитопротекторным эффектам и ангиогенной способности, МСК уменьшают повреждение клеток и тканей и оказывают защитный эффект. Отмечается, что МСК могут подавлять пролиферацию лимфоцитов, созревание и функции других иммунных клеток. Таким образом, иммуномодулирующие свойства и низкая иммуногенность позволяют рассматривать МСК при лечении аутоиммунных заболеваний. Кроме того, МСК обладают способностью к специфическому хоумингу в поврежденные ткани реципиента.

Первое клиническое исследование, в котором использовалась трансплантация МСК, было опубликовано в 1995 году [6]. В настоящее время в международной базе данных клинических испытаний зарегистрировано более 1000 проектов, которые основаны на применении МСК при различных заболеваниях. Высокая эффективность применения аутологичных МСК была доказана в лечении острых нарушений функции органов (инфаркт миокарда, инсульт, острая почечная недостаточность), иммунных заболеваний (болезнь Крона и «трансплантат против хозяина», рассеянных склероз), нарушении целостности эпителиальных покровов. МСК активно применяются в травматологии, комбустиологии, хирургии, неврологии. Постоянно расширяются области применения стволовых клеток [7]. Несмотря на то, что клиническое применение МСК показало их эффективность и улучшило результаты лечения пациентов, для подтверждения этих результатов необходимы хорошо спланированные проспективные рандомизированные двойные слепые плацебо-контролируемые клинические испытания. Так, например, клинические испытания с использованием МСК для лечения болезни трансплантат против хозяина различаются по многим критическим характеристикам применения (доза, количество доз), процедуре подготовки клеток, продолжительности ведения культуры в пассажах, составу питательной среды и т.д. Могут варьироваться способы введения клеточного препарата и его состояние – непосредственно после экспансии *ex vivo* [8] или после криоконсервации [9].

Аутологичные МСК имеют некоторые потенциальные ограничения для широкого применения. Во-первых, получение достаточного количества биоматериала для выделения аут-МСК от некоторых пациентов, например, МСК жировой ткани у пациентов с низким индексом

массы тела, или МСК костного мозга у пациентов с миелофиброзом. Во-вторых, МСК, выделенные у пожилых людей, характеризуются сниженной биологической активностью, включающую способность к дифференциации и регенеративный потенциал [10]. В-третьих, некоторые системные заболевания, такие как диабет [11], ревматоидный артрит [12] и системная красная волчанка (СКВ) [13], изменяют функциональные свойства МСК. Так показано, что МСК, полученные от пациентов с СКВ, имеют морфологические признаки стареющих клеток, а их пролиферативный и миграционный потенциал снижены. Содержание МСК в органах и тканях людей, страдающих СКВ, является слишком низким для использования их с целью модуляции иммунитета [14, 15]. Кроме того, процедура получения и накопления терапевтически значимой биомассы МСК требует много времени, что затрудняет их быстрое использование для лечения острых заболеваний.

Именно поэтому применение аут-МСК, полученных от таких групп пациентов, является сложной задачей. Решением этой проблемы может являться использование алл-МСК от здоровых доноров. Создание криобанков аллогенных МСК решает проблему необходимости длительного получения первичных культур и накопления биомассы, и делает возможным применение МСК сразу после их назначения. Кроме того, применение алл-МСК позволит снизить стоимость лечения клеточным продуктом в сравнении с применением аут-МСК. Следовательно, алл-МСК являются многообещающей альтернативой применению аут-МСК с преимуществами в отношении времени, стоимости и обеспечения качества.

Немаловажным является возраст донора ткани для получения МСК и длительность пассажирования культур *in vitro*. Была продемонстрирована корреляция между морфологическими и функциональными характеристиками МСК КМ и возрастом донора [16]. От 18 добровольцев разных возрастных групп (0 – 12 лет $n=6$; 25-50 лет $n=6$; >60 лет $n=6$) были получены клеточные линии, которые культивировали на протяжении 120 суток. Сравнение пролиферативного потенциала клеток разных возрастных групп показало самые высокие значения для детской группы доноров (38 ± 8), сниженный потенциал отмечали для группы взрослых (30 ± 6) и крайне низкий для клеток, полученных от пожилых доноров (10 ± 6). Полная остановка пролиферации культур была также различна: если культуры от пожилых доноров прекращали пролиферировать на 7 пассаже, от лиц среднего возраста – на 15, то МСК,

полученные от детей, сохраняли способность к пролиферации до 24 пассажа (182 дня). Продолжительность культивирования влияла также на морфологию клеток. К 15, 9 и 5 пассажам (дети, взрослые, пожилые) клетки начинали терять фибробластоподобную морфологию и приобретали неправильную более уплощенную форму.

До настоящего времени большинство клинических исследований алл-МСК проводилось с использованием МСК, полученных от одного донора. Поскольку биологическая активность клеток заметно различается от донора к донору, результаты, полученные в этих исследованиях, были в значительной степени разнородными. Кроме того, можно сделать вывод о том, что МСК демонстрируют не только обширную индивидуальную, но и внутривидовую гетерогенность на клональном уровне. Таким образом, существует проблема в изготовлении БМКП на основе МСК, которые бы имели предсказуемый и постоянный уровень пролиферации и иммуносупрессивный потенциал, а также минимальную вариабельность от партии к партии.

В то же время пулирование (объединение) монокультур позволяет быстро нарастить большую биомассу клеток путем смешивания нескольких культур от разных доноров, тем самым подготовив клетки для введения пациенту в их оптимальном функциональном состоянии. Однако вопрос о скорости старения и пролиферативном потенциале пулМСК остается не раскрытым.

Экспериментальное и доклиническое изучение терапевтического потенциала пулМСК

Пулирование культур помогает решить проблему вариабельности пролиферативного потенциала у культур МСК, полученных от разных доноров. Имеются данные, что быстро пролиферирующие клетки вносят большой вклад в целую пулированную культуру, если их объединить с культурой с более низкой пролиферативной активностью, что в конечном итоге приводит к повышению скорости пролиферации всей пулированной культуры [17].

Сообщается, что в пулированных культурах МСК, включающих клетки как минимум от 3-х доноров, концентрация любой молекулы HLA будет ниже, чем в популяции МСК, полученных от одного донора. Предполагается, что это снизит риск генерации антител против HLA (то есть донор-специфических антител, DSA) у пациентов, которым вводят пулированную аллогенную культуру МСК [18].

Также показано, что иммуносупрессивные свойства МСК, которые делают их привлекательными для использования при лечении заболеваний с избыточным иммунным ответом, также могут быть улучшены с помощью создания пулированной культуры. В 2016 году Z. Kuçi с коллегами изучили иммуносупрессивные свойства и сравнили 8 монокультур МСК костного мозга с культурой пулированных МСК, полученной из этих же 8 культур. Среди полученных культур аллосупрессивный потенциал варьировался от 20 до 80% у различных культур. После пулирования показатели культуры были равны или выше среднего значения аллосупрессивного потенциала всех 8 монокультур. Также было показано, что иммуносупрессивные свойства пулированной культуры сохраняются стабильными после криоконсервации и последующего восстановления [19]. В то же время, в исследовании, которое было проведено в 2019 году Hejretová, L. и коллегами, было выполнено сравнение 5 монокультур МСК костного мозга и пулированной культуры МСК, полученной путем смешивания этих культур. Показано отсутствие разницы между моно- и пулированной культурой в отношении влияния на активацию Т-лимфоцитов, также не выявлено различий в их морфологии, иммунофенотипе, метаболизме и пролиферации [20].

Изучено также влияние пулирования на дифференцировку МСК костного мозга в остеогенном направлении. Было показано, что пулирование клеток не оказывает негативного влияния на остеогенную дифференциацию человеческих МСК в условиях *in vitro* и компенсирует специфическую изменчивость каждого донора [17].

Для проверки функционального состояния пулМСК после криоконсервации, культуру клеток, полученных от 3 доноров, на 3 пассаже замораживали в концентрации 3×10^6 в 2 мл стандартной среды для криоконсервации [21]. Было показано, что сразу после размораживания клеток, без высева, их жизнеспособность составляла в среднем 80%, после засева клеток на культуральные флаконы (4 пассаж) жизнеспособность возрастала до 95%. Морфология клеток также была типичная – фибробластоподобная – для всех МСК. Такие показатели отмечали как для восстановленных моно-, так и для пулМСК. До и после криоконсервации проводили иммунофенотипический анализ всех культур. И одиночные культуры, и пулированные демонстрировали характерный фенотип, который подтвердил их мезенхимальную природу – более 95% CD44, CD73, CD90 и CD166, в то время как молекулы

CD34, CD45 и HLA-DR отсутствовали. После криоконсервации и восстановления фенотип всех клеток не изменился.

Безопасность применения пулированных культур МСК

До сих пор нет единого стандартизированного источника для получения первичных культур МСК, а методика получения клеток варьируется у разных групп исследователей. Однако популярным объектом для выделения с целью дальнейшего пулирования клеток является костный мозг. Большое внимание сейчас уделяется проверке безопасности применения пулированных культур таких клеток. Так, пулированные МСК, выделенные из костного мозга (КМ) человека, вводили кроликам и крысам. Было показано, что однократные инъекции пулированных МСК костного мозга в различных дозах внутривенно или внутримышечно не вызывали токсичности у крыс и кроликов. Кроме того, повторное введение также хорошо переносилось крысами, и при многократном введении у одного и того же вида животных не наблюдалось пренатальной токсичности. Также было установлено, что восстановленные после криоконсервации пулМСК не индуцировали образование опухолей у мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом [22]. Изучение иммунологических показателей у животных, которым вводили пулированные МСК костного мозга, не выявило изменений в уровне провоспалительных цитокинов или числа циркулирующих Т-лимфоцитов в динамике после введения клеток. Схожие результаты продемонстрированы Ramot et al. И показана долговременная безопасность однократного и повторного введения мышам пулированных МСК, полученных из плаценты [23].

До конца остается не изученным механизм хоуминга пулМСК и их влияния на регенерацию поврежденных тканей. Кинетика биораспределения пулированных МСК костного мозга показала, что внутривенно введенные клетки первоначально накапливались в органах грудной полости, а затем перераспределялись в другие органы и полностью элиминировались к 13 дню эксперимента. В другом исследовании при внутривенном введении грызунам, пулМСК человека накапливались первоначально в легких и постепенно мигрировали в печень, селезенку, почки и костный мозг, а затем исчезали из кровообращения. Кроме того, было продемонстрировано, что МСК могут приживаться и сохраняться во многих тканях в ксеногенной среде благодаря

своим уникальным иммунологическим характеристикам. В недавно опубликованном исследовании картину распределения МСК костного мозга в тканях свиней сравнивали при внутривенном и внутриартериальном введении [24]. Хотя оба способа были признаны безопасными, хоуминг клеток в легких наблюдался только у животных, которым проводили внутривенную инъекцию. При введении МСК внутримышечно было показано, что клетки сохраняются только в месте введения.

Несмотря на то, что существует множество данных, указывающих на низкую иммуногенность аллогенных МСК *in vitro*, при *in vivo* применении отсутствуют однозначные сведения об иммунной реакции у донора в ответ на введение алл-МСК.

При котрансплантации ауто- и аллогенных мышечных МСК КМ наблюдалось снижение иммунного ответа на алл-МСК у реципиента, в то же время, при введении только донорских МСК, их приживление было низким. Более того, инфузия аллогенных МСК приводила к развитию клеточного иммунного ответа у мышей [25].

Основным механизмом элиминации донорских МСК является их уничтожение цитотоксическими Т-клетками. Было показано, что эффективность элиминации МСК аллогенными активированными Т-клетками *in vitro* возрастает при предобработке МСК в течение 24 часов провоспалительными цитокинами ИФН- γ , ИЛ-1 β или смесью ИФН- γ и ИЛ-1 β [26]. При этом у МСК возрастала экспрессия молекул МНС I и II, а иммуносупрессивные свойства утрачивались полностью [27].

Об образовании аллоантител при введении МСК *in vivo* известно мало. При введении двух доз алл-МСК (5×10^6 клеток/кг массы тела) иммунокомпетентным бабуинам отмечалась продукция аллоантигена у двух из шести животных [28]. При введении алл-МСК 12 пациентам, страдающим синдромом «трансплантат против хозяина», ни у одного из пациентов не происходила выработка антител против МСК [29]. В то же время при однократном введении алл-МСК крысам в концентрации, которая сопоставима с самой часто применимой при инфузии человеку ($1 - 5 \times 10^6$ клеток / кг массы), через 2 недели отмечали наличие в крови повышенной концентрации IgG1 и IgG2 по сравнению с крысами, которым вводили ауто-МСК [26].

Сообщается также, что фенотипический анализ пулированных МСК КМ выявил высокие уровни молекул, характерных для МСК, и очень

низкую или незначительную экспрессию различных маркеров гемопоэтических клеток. Все испытанные партии клеток соответствовали требованию стерильности, анализ кариотипирования и ДНК-плоидности не выявил каких-либо геномных аномалий. Также были проанализированы иммуносупрессивные свойства полученной культуры. Было показано, что пулированная культура МСК костного мозга опосредуют ингибирование пролиферации лимфоцитов. Полученная культура являлась также мультипотентной, что было доказано при стимуляции ее дифференцировки в остео-, хондро- и адипогенном направлениях. Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что пулированные клетки сохраняют все свойства МСК, которые присущи монокультурам [23].

При применении БМКП важным является вопрос контроля вирусологической чистоты препарата. Подбор здоровых доноров является важным для получения культур клеток с максимально высокими и стабильными функциональными свойствами. Было показано, что МСК чувствительны к герпесвирусным инфекциям [30]. При заражении ЦМВ-инфекцией происходит нарушение иммуносупрессивных свойств МСК, а влияние на экспрессию ИДО приводит к снижению антимикробной активности [31]. Имеются данные о способности ЦМВ передаваться через МСК между донором и реципиентом. Было продемонстрировано, что МСК КМ, полученные от серопозитивных доноров, содержат вирус, который может размножаться в клетках *in vitro* и при введении сероотрицательному человеку вызывать у него инфекцию [32]. Для других герпесвирусов, таких как вирус герпеса 1 и 2 типа, вирус ветряной оспы, также характерно накопление в МСК и возможная передача реципиенту, в то время чувствительность МСК к вирусам герпеса 6, 7, 8 типа и вируса Эпштейн-Барра невысока, что снижает вероятность инфицирования через трансплантацию [33].

Показано, что МСК КМ ВИЧ-инфицированных пациентов обладают сниженным клоногенным потенциалом и повышенным уровнем провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6 и MIP-1 α), а также нарушенной способностью к дифференцировке в остео- и адипогенном направлении [34,35]. Существует предположение, что МСК могут быть потенциальным скрытым резервуаром ВИЧ-1-инфекции, так как имеются данные о возможности встраивания генома ВИЧ-1 в ДНК МСК [36].

Также было показано, что МСК пациентов с гепатитом В чувствительны к вирусу гепатита В [37]. Введение ауто-МСК пациентам с гепатитом В считается допустимым, но вводимые клетки характеризуются пониженной пролиферативной активностью и имеют более низкий уровень экспрессии рецепторов фактора роста [38].

Клиническое применение пулМСК

Клинические испытания с применением БМКП на основе пулМСК в настоящий момент немногочисленны.

Одним из учреждений специализирующихся в этом направлении, является индийская компания Stempeutics Research Bangalore, которая выпускает клеточный продукт Stempeucel[®], представляющий собой пулированную культуру МСК костного мозга трех доноров. Как указано на сайте компании, Stempeucel[®] разработан для лечения остеоартрита, ишемии нижних конечностей, язв при диабетической стопе, применяется в косметологии. Так, одно из рандомизированных плацебо-контролируемых клинических исследований метода клеточной терапии остеоартрита, спонсируемых этой компанией, было проведено с 2011 по 2013 гг, в нем приняло участие 60 пациентов. Пациентам в разных группах исследования проводили внутрисуставные инъекции пулМСК в количестве 25 млн, 50 млн, 75 млн или 150 млн клеток, после чего дополнительно вводили гиалуроновую кислоту (в каждой группе по дозам БМКП: n=10 – клеточная терапия, n=5 – плацебо). Была установлена безопасность проводимой терапии, также авторы утверждают, что для снятия болевого синдрома наиболее эффективна доза в 25 млн клеток, хотя не было установлено достоверных различий между пациентами, получавшими плацебо, и пациентами, которым вводили БМКП, что может быть связано с небольшим количеством участников. Исследование зарегистрировано в международной базе данных клинических испытаний (рег. номер - NCT01453738) [22].

В 2016 году были опубликованы результаты применения Stempeucel[®] при ишемии и язвах нижних конечностей, сопровождающих облитерирующий тромбангиит (Болезнь Бюргера) – воспалительное заболевание мелких и средних сосудов. В проспективном нерандомизированном многоцентровом исследовании приняло участие 90 пациентов, которые были разделены на три группы: группа сравнения (n=18); 1-ая группа пациентов, которым вводили клетки в количестве 1 млн/кг веса (n=36), 2-ая группа пациентов,

которым вводили клетки в количестве 2 млн/кг веса (n=36). БМКП инъецировали локально в икроножную мышцу и по периметру язв. Проводимая терапия была безопасна, хорошо переносима, более выраженный терапевтический эффект достигался при введении 2 млн клеток / кг. В этой группе пациентов была более выражена динамика заживления язвенных дефектов, снизился болевой синдром, улучшились показатели лодыжечно-плечевого индекса и толерантность к физической нагрузке [39].

В уже упомянутом исследовании Z. Kući и коллег из Германии, Хорватии и Великобритании представлены результаты проведенного в 7-ми различных медицинских центрах клинического испытания эффективности пулМСК от 8-ми доноров в лечении II (4%) и III-IV (96%) стадий стероидрезистентной РТПХ. У 77% пациентов, получивших трансплантацию пулМСК, через месяц наблюдалось улучшение состояния, спустя 2 года наблюдений общая выживаемость составила $71 \pm 11\%$, что достоверно выше, чем в испытаниях, в которых для лечения РТПХ применялись моно культуры МСК – $51,4 \pm 9,0\%$ [19].

На текущий момент в международной базе clinicaltrials.gov зарегистрировано три клинических испытания с применением пулМСК, одно – в Швеции по лечению сахарного диабета I типа (NCT03973827), и два в Республике Беларусь (Институт биофизики и клеточной инженерии в сотрудничестве с БГМУ) – лечение СКВ (NCT04184258) и внебольничных интерстициальных пневмоний (NCT04382547). Нами получены первые данные о безопасности и хорошей переносимости применения пулМСК у пациентов с СКВ (n=5), по результатам исследований подготовлен и утвержден отчет о безопасности.

Заключение

Проанализированы имеющиеся данные о дифференцировочном потенциале, пролиферативной активности и иммунобиологических свойствах пулМСК и возможности их применения в клинической практике.

Известно, что иммуносупрессивный потенциал и функциональные характеристики МСК могут значительно отличаться от донора к донору, что может быть обусловлено возрастом донора, состоянием его здоровья. Вариативность свойств индивидуальных культур МСК можно нивелировать путем объединения (пулирования) нескольких культур от разных доноров в одну, что позволяет добиться стабилизации иммунофункциональных свойств смешанной

культуры и оптимизировать процесс производства БМКП.

В связи с перспективностью клинического применения пулМСК требуется обратить внимание еще на один аспект контроля качества клеток – вирусологическую безопасность. Бурное развитие клеточных технологий диктует необходимость проведения дальнейших научных исследований с целью оценки возможности персистенции широкого спектра вирусных патогенов в МСК. Для проведения вирусологического контроля БМКП и исключения инфицирования реципиента на всех этапах производства будут востребованы недорогие экспресс-тесты. Так, например, методически это может быть реализовано на основе технологии ДНК-биочипов, содержащих зонды к множеству возбудителей вирусных и бактериальных инфекций.

Литература

1. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8:315–7.
2. Carrion F., Nova E., Ruiz C., et al. Autologous mesenchymal stem cell treatment increased T regulatory cells with no effect on disease activity in two systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2010;19(3):317–322. doi:10.1177/0961203309348983
3. Gu Z., Akiyama K., Ma X., et al. Transplantation of umbilical cord mesenchymal stem cells alleviates lupus nephritis in MRL/lpr mice. *Lupus*. 2010;19(13):1502–1514. doi:10.1177/0961203310373782
4. Nie Y., Lau C., Lie A. et al. Defective phenotype of mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2010;19(7):850–859. doi:10.1177/0961203309361482
5. Papaccio F., Paino F., Regad T. et al. Concise Review: Cancer Cells, Cancer Stem Cells, and Mesenchymal Stem Cells: Influence in Cancer Development. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(12):2115–2125. doi:10.1002/sctm.17-0138
6. Lazarus H.M., Haynesworth S.E., Gerson S.L. et al. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): implications for therapeutic use. *Bone Marrow Transplant*. 1995;16(4):557–564.
7. Galipeau J., Sensébé L. Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities. *Cell Stem Cell*. 2018;22(6):824–833. doi:10.1016/j.stem.2018.05.004
8. Elgaz S., Kuçi Z., Kuçi S. et al. Clinical Use of Mesenchymal Stromal Cells in the Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease. *Transfus Med Hemother*. 2019;46(1):27–34. doi:10.1159/000496809
9. Muroi K., Miyamura K., Okada M., et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (JR-031) for steroid-refractory grade III or IV acute graft-versus-host disease: a phase II/III study. *Int J Hematol*. 2016;103(2):243–250. doi:10.1007/s12185-015-1915-9
10. Mueller S.M., Glowacki J. Age-related decline in the osteogenic potential of human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *J. Cell Biochem*. 2001;82:583–90.
11. Cianfarani F., Toietta G., Di Rocco G. et al. Diabetes impairs adipose tissue-derived stem cell function and efficiency in promoting wound healing. *Wound Repair Regen*. 2013;21:545–53.
12. Sun Y., Deng W., Geng L., et al. Mesenchymal stem cells from patients with rheumatoid arthritis display impaired function in inhibiting Th17 cells. *J. Immunol. Res*. 2015; 2015:284215.
13. Sun L.Y., Zhang H.Y., Feng X.B. et al. Abnormality of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2007;16(2):121–128. doi:10.1177/0961203306075793
14. Geng L., Li X., Feng X., et al. Association of TNF- α with impaired migration capacity of mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol Res*. 2014; 2014:169082. doi:10.1155/2014/169082
15. Gao L., Bird A.K., Meednu N. et al. Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells From Patients With Systemic Lupus Erythematosus Have a Senescence-Associated Secretory Phenotype Mediated by a Mitochondrial Antiviral Signaling Protein-Interferon- β Feedback Loop. *Arthritis Rheumatol*. 2017;69(8):1623–1635. doi:10.1002/art.40142
16. Zaim M., Karaman S., Cetin G., Isik S. Donor age and long-term culture affect differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Ann. Hematol*. 2012;91(8):1175–1186. doi:10.1007/s00277-012-1438-x
17. Widholz B., Tsitlakidis S., Reible B. et al. Pooling of Patient-Derived Mesenchymal Stromal Cells Reduces Inter-Individual Confounder-Associated Variation without Negative Impact on Cell Viability, Proliferation and Osteogenic Differentiation. *Cells*. 2019;8(6):633. doi:10.3390/cells8060633
18. Allogeneic composition: pat.№WO2019158712A1 // Mathias Gösta Svahn // NEXTCELL PHARMA AB [SE/SE]; Published: Flalsovagen 7, 145 57 Fluddinge (SE) / 22.08.2019
19. Kuçi Z., Böniğ H., Kreyenberg H. et al. Mesenchymal stromal cells from pooled mononuclear cells of multiple bone marrow donors as rescue therapy in pediatric severe steroid-refractory graft-versus-host disease: a multicenter survey. *Haematologica*. 2016;101(8):985–994. doi:10.3324/haematol.2015.140368
20. Hejretová L., Čedíková M., Dolejšová M. et al. Comparison of the immunomodulatory effect of single MSC batches versus

- pooled MSC products. *Cell Tissue Bank*. 2020;21(1):119-129. doi:10.1007/s10561-019-09805-3
21. Mamidi M.K., Nathan K.G., Singh G. et al. Comparative cellular and molecular analyses of pooled bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells during continuous passaging and after successive cryopreservation. *J Cell Biochem*. 2012;113(10):3153-3164. doi:10.1002/jcb.24193
 22. Gupta P.K., Chullikana A., Rengasamy M. et al. Efficacy and safety of adult human bone marrow-derived, cultured, pooled, allogeneic mesenchymal stromal cells (Stempeuce^l): preclinical and clinical trial in osteoarthritis of the knee joint. *Arthritis Res Ther*. 2016;18(1):301. doi:10.1186/s13075-016-1195-7
 23. Rengasamy M., Gupta P.K., Kolkundkar U. et al. Preclinical safety & toxicity evaluation of pooled, allogeneic human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Indian J Med Res*. 2016;144(6):852-864. doi:10.4103/ijmr.IJMR_1842_15
 24. Mäkelä T., Takalo R., Arvola O. et al. Safety and biodistribution study of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells and mononuclear cells and the impact of the administration route in an intact porcine model. *Cytotherapy*. 2015;17(4):392-402. doi:10.1016/j.jcyt.2014.12.004
 25. Glenn JD, Whartenby KA. Mesenchymal stem cells: Emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J Stem Cells*. 2014;6(5):526-539. doi:10.4252/wjsc.v6.i5.526
 26. Schu S., Nosov M., O'Flynn L. et al. Immunogenicity of allogeneic mesenchymal stem cells. *J Cell Mol Med*. 2012;16(9):2094-2103. doi:10.1111/j.1582-4934.2011.01509.x
 27. Rafei M, Birman E, Forner K, Galipeau J. Allogeneic mesenchymal stem cells for treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Mol Ther*. 2009;17(10):1799-1803. doi:10.1038/mt.2009.157
 28. Beggs K.J., Lyubimov A., Borneman J.N. et al. Immunologic consequences of multiple, high-dose administration of allogeneic mesenchymal stem cells to baboons. *Cell Transplant*. 2006;15(8-9):711-721. doi:10.3727/000000006783981503
 29. Sundin M., Ringdén O., Sundberg B. et al. No alloantibodies against mesenchymal stromal cells, but presence of anti-fetal calf serum antibodies, after transplantation in allogeneic hematopoietic stem cell recipients. *Haematologica*. 2007;92(9):1208-1215. doi:10.3324/haematol.11446
 30. Smirnov S.V., Harbacheuski R., Lewis-Antes A. et al. Bone-marrow-derived mesenchymal stem cells as a target for cytomegalovirus infection: implications for hematopoiesis, self-renewal and differentiation potential. *Virology*. 2007;360(1):6-16. doi:10.1016/j.virol.2006.09.017
 31. Meisel R., Heseler K., Nau J. et al. Cytomegalovirus infection impairs immunosuppressive and antimicrobial effector functions of human multipotent mesenchymal stromal cells. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014:898630. doi:10.1155/2014/898630
 32. Soland MA, Keyes LR, Bayne R, et al. Perivascular stromal cells as a potential reservoir of human cytomegalovirus. *Am J Transplant*. 2014; 14(4):820-830. doi:10.1111/ajt.12642
 33. Thanunchai M, Hongeng S, Thitithayanont A. Mesenchymal Stromal Cells and Viral Infection. *Stem Cells Int*. 2015; 2015: 860950. doi:10.1155/2015/860950
 34. Wang L., Mondal D., La Russa V.F. et al. Suppression of clonogenic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells by HIV type 1: putative role of HIV type 1 tat protein and inflammatory cytokines. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2002;18(13):917-931. doi:10.1089/088922202760265597
 35. Cotter E.J., Chew N., Powderly W.G. et al. HIV type 1 alters mesenchymal stem cell differentiation potential and cell phenotype ex vivo. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011;27(2):187-199. doi:10.1089/aid.2010.0114
 36. Gibellini D, Alviano F, Miserocchi A, et al. HIV-1 and recombinant gp120 affect the survival and differentiation of human vessel wall-derived mesenchymal stem cells. *Retrovirology*. 2011; 8:40. doi:10.1186/1742-4690-8-40
 37. Ma, R., Xing, Q., Shao, L. et al. Hepatitis B virus infection and replication in human bone marrow mesenchymal stem cells. *Virology journal*. 2011; 1: 486.
 38. Zhong Y.S., Lin N., Deng M.H. et al. Deficient proliferation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with chronic hepatitis B viral infections and cirrhosis of the liver. *Dig Dis Sci*. 2010;55(2):438-445. doi:10.1007/s10620-009-0733-4
 39. Gupta, P.K., Krishna, M., Chullikana, A. et al. Administration of Adult Human Bone Marrow-Derived, Cultured, Pooled, Allogeneic Mesenchymal Stromal Cells in Critical Limb Ischemia Due to Buerger's Disease: Phase II Study Report Suggests Clinical Efficacy. *Stem cells translational medicine*; 2017; 3:689-699.

Сведения об авторах:

Рында Елена Геннадьевна – младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и клеточной биофизики государственного научного учреждения «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: alenarynda@gmail.com Тел.: +375-29-6248972
 Антоневиц Наталья Георгиевна – канд. биол. наук, зав. лабораторией иммунологии и клеточной биофизики государственного научного учреждения «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: antonevich.n@gmail.com Тел.: +375-17-2842351/+375-29-5987406

Гончаров Андрей Евгеньевич – канд. мед. наук, доцент, директор государственного научного учреждения «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrei.hancharou@gmail.com Тел.: +375-17-2842357 /+375-29-6248972

Поступила 22.05.2020 г.