

МОНОНУКЛЕАРНЫЕ КЛЕТКИ ПУПОВИННО-ПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА: ОЦЕНКА АЛЛЕРГЕННОСТИ И ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ИММУННЫЙ СТАТУС В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ТЕПЛОКРОВНЫХ

Скупневский С.В.¹, Савельев Р.В.¹, Пухаева Е.Г.¹, Морозова Я.В.^{2,3}, Радаев С.М.², Смирнов В.А.², Гринь А.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Республика Северная Осетия – Алания, Россия

² ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека (МКППКЧ) применяются в качестве основной или вспомогательной терапии для лечения порядка 80 различных нозологий, что связано с их высокой пролиферативной активностью, низкой иммуногенностью и возможностью подбора редких HLA-типов трансплантатов для этнических меньшинств. В этой связи оценка безопасности клеточного материала в отношении иммунной системы является актуальной. Цель – изучить аллергенное и иммуотоксическое действие мононуклеарных клеток пуповинно-плацентарной крови человека в рамках доклинических испытаний на животных. Изучение гиперчувствительности I типа к МКППКЧ проводилось по стандартной методике оценки бронхиолоспазма на трахее самцов и самок морских свинок. Образцы участков трахеи инкубировали в растворе Рингера–Тироде с конечной концентрацией суспензии мононуклеарных клеток 2,5%, позитивный контроль – гистамина гидрохлорид. Определение антител к МКППКЧ осуществлялось на самцах мышей линии CBAxС57В2/6 по реакции связывания комплемента (индикация – отсутствие гемолиза эритроцитов барана). Мышам однократно внутривенно вводили клеточный материал в 10, 50 и 100-кратной дозировке от терапевтической для человека ($8,57 \times 10^7$ клеток/кг, $4,28 \times 10^8$ клеток/кг, $8,57 \times 10^8$ клеток/кг массы тела соответственно); кровь для анализа отбирали через 21 день после введения биоматериала. Позитивный контроль – сыворотка мышей, иммунизированных *S. aureus*. Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов проводилось на самцах и самках крыс линии Wistar, которым однократно внутривенно вводили МКППКЧ из расчета 100-кратной терапевтической дозировки. Через

Адрес для переписки:

Скупневский Сергей Валерьевич
ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова»
362025, Россия, Республика Северная Осетия – Алания,
г. Владикавказ, ул. Ватутина, 44-46.
Тел.: 8 (988) 871-55-28.
E-mail: dreammas@yandex.ru

Address for correspondence:

Sergey V. Skupnevskiy
North Ossetian State University
44-46 Vatutin St
Vladikavkaz, Republic of North Ossetia – Alania
362025 Russian Federation
Phone: +7 (988) 871-55-28.
E-mail: dreammas@yandex.ru

Образец цитирования:

С.В. Скупневский, Р.В. Савельев, Е.Г. Пухаева, Я.В. Морозова, С.М. Радаев, В.А. Смирнов, А.А. Гринь «Мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека: оценка аллергенности и воздействие на иммунный статус в экспериментах на теплокровных» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 303-310. doi: 10.15789/1563-0625-MCF-3037

© Скупневский С.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.V. Skupnevskiy, R.V. Savelyev, E.G. Pukhaeva, Ya.V. Morozova, S.M. Radaev, V.A. Smirnov, A.A. Grin "Mononuclear cells from human umbilical cord/placental blood: Assessment of allergenicity and impact on immune status in experimental warm-blooded animals", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 303-310.
doi: 10.15789/1563-0625-MCF-3037

© Skupnevskiy S.V. et al., 2025

The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-MCF-3037

30 дней проводили исследование фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа методом тест-туши, анализируя по 600 клеток на каждую группу. Рассчитывали медиану, верхний и нижний квартили ($Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$); сравнение гипотез проводили по U-критерию Манна–Уитни. В ответ на введение МКППКЧ анафилактогенной активности и выработки антител к клеточному материалу в экспериментах на животных не выявлено. У самок крыс статистически значимо ($p = 0,004$) возросла фагоцитарная активность нейтрофилов относительно контрольных животных (56,5 (53,8–60,8) и 44,0 (40,5–47,5) соответственно); у самцов крыс отмечена тенденция к увеличению фагоцитарной активности на 13% ($p = 0,054$). Фагоцитарный индекс во всех сравниваемых группах остался в зоне флуктуаций нормативных величин 1,8–2,0. Мононуклеары пуповинно-плацентарной крови человека не обладают анафилактогенным, а в 100-кратной от терапевтической дозировки ($8,57 \times 10^8$ кл/кг) — иммуно-токсическим действием, но способствуют росту фагоцитарной активности нейтрофилов, что требует дальнейших доклинических и клинических испытаний эффективности и безопасности применения биоматериала с высоким лечебным потенциалом.

Ключевые слова: анафилактогенная активность, гиперчувствительность немедленного типа, гуморальный иммунитет, иммуноотскачивание, клеточный иммунитет, мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека, фагоцитоз

MONONUCLEAR CELLS FROM HUMAN UMBILICAL CORD/ PLACENTAL BLOOD: ASSESSMENT OF ALLERGENICITY AND IMPACT ON IMMUNE STATUS IN EXPERIMENTAL WARM- BLOODED ANIMALS

Skupnevskiy S.V.^a, Saveljev R.V.^a, Pukhaeva E.G.^a, Morozova Ya.V.^{b, c},
Radaev S.M.^b, Smirnov V.A.^b, Grin A.A.^b

^a North Ossetian State University, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia — Alania, Russian Federation

^b N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

^c E. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Human mononuclear cells from umbilical cord blood (HUCBMCs) are used as the main or adjuvant therapy for treatment of about 80 different diseases, due to high proliferative activity of these cells, low immunogenicity and an opportunity of selecting rare HLA types for transplants. In this regard, assessment of cellular material in protocols of immunopharmacology is relevant. Our objective was to study allergenic and immunotoxic effects of mononuclear cells from human umbilical cord/placental blood as preclinical testing in laboratory animals. The study of type I hypersensitivity to HUCBMCs was carried out using a standard method for assessing bronchiolar spasm in male and female guinea pigs. The samples of tracheal sections were incubated in Ringer–Tyrode solution at the 2.5 per cent concentration of mononuclear cell suspension, with histamine hydrochloride serving a positive control. Antibody detection to HUCBMCs was carried out in the CBAx57B2/6 male mice using by means of complement fixation test (indexed as absence of hemolysis of sheep erythrocytes). The mice were subjected to single intravenous injections of cell material exceeding the human therapeutic dose 10, 50 and 100-times (8.57×10^7 cells/kg, 4.28×10^8 cells/kg, 8.57×10^8 cells/kg body weight, respectively). Blood for analysis was taken 21 days after administration of the biomaterial. Blood serum from mice immunized with *S. aureus* was used as a positive control. A study of the phagocytic activity of neutrophils was carried out in male and female Wistar rats, which were subjected to a single intravenous injection of HUCBMCs at 10-fold therapeutic dosage. After 30 days, the phagocytic index and phagocytic number were studied using the ink test method, by analyzing 600 cells for each group. The median, upper and lower quartiles ($Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$) were calculated; the hypotheses were compared using the Mann–Whitney U test. We didn't detect anaphylactogenic activity and production of antibodies to cellular material after administration of HUCBMCs to the animals. In female rats, the phagocytic activity of neutrophils increased statistically significantly ($p = 0.004$) relative to control animals [56.5 (53.8–60.8) versus 44.0 (40.5–47.5), respectively]. In male rats, there was a tendency to increased phagocytic activity by 13% ($p = 0.054$). The phagocytic index

in all compared groups remained within deviations of standard values (1.8-2.0). Human umbilical cord blood mononuclear cells do not exhibit an anaphylactogenic, and do not show any immunotoxic effect at 100-fold at the human therapeutic dosage (8.57×10^8 cells/kg). However, they contribute to increase of phagocytic activity of neutrophils, thus requiring further preclinical and clinical trials of efficiency and safety for usage of this biomaterial with high therapeutic potential.

Keywords: anaphylactogenic activity, immediate hypersensitivity, humoral immunity, immunotoxicity, cellular immunity, mononuclear cells, human umbilical/placental blood, phagocytosis

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке АНО «Московский Центр Инновационных Технологий в Здравоохранении» (грант на реализацию научно-практического проекта в сфере медицины: «Разработка методов регенеративной и клеточной терапии заболеваний и повреждений центральной нервной системы»).

Введение

Мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека широко вошли в современную клиническую медицину после первой успешной трансплантации, осуществленной в 1988 г. [11]. К настоящему времени они применяются в качестве основной или вспомогательной терапии для лечения порядка 80 различных нозологий, включая онкологические заболевания, анемии, наследственные болезни обмена веществ, иммунодефицитные состояния [16]. Так, один из наиболее перспективных подходов консолидирующего лечения опухолей кроветворной ткани основан на применении гемопоэтических стволовых клеток [2], что позволяет добиться не только репопуляции клеток костного мозга, но и восстановления иммунитета. Согласно результатам статистических исследований, представленных Мировым сообществом по трансплантации крови и костного мозга (The Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation, WBMT), только к 2019 г. осуществлено более 1,5 млн трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток, выделенных из костного мозга, пуповинной крови и из периферической крови после ее афереза [15].

Основными преимуществами МКППКЧ по сравнению с другими источниками являются высокая пролиферативная активность, низкая иммуногенность, возможность подбора редких HLA-типов трансплантатов для этнических меньшинств, возможность увеличения количества стволовых клеток в условиях *in vitro*, наличие более длинных теломерных участков хромосом, продукция гемопоэтических ростовых факторов [1, 6]. Так, применение МКППКЧ позволяет значительно сократить период ожидания реципиентом подходящего трансплантата, а сама процедура сбора пуповинной крови является безопасной для матери и плода, технически простой, имеет стандартизованный подход к тести-

рованию и типированию по HLA-системе, консервированию и хранению клеточного материала в криобанках [22]. Однако наряду с преимуществами трансплантации стволовых клеток пуповинной крови, существуют недостатки и трудности их использования в медицинской практике. К ним относятся: потенциальный риск передачи генетических заболеваний; сниженная скорость приживления трансплантата; относительно малое количество гемопоэтических стволовых клеток в единичном заготавливаемом образце; в ряде случаев отсутствие возможности повторного отбора материала; зависимость положительного результата лечения от подбора правильной дозировки клеток [8, 18]. Дальнейшие исследования, посвященные выявлению эффектов МКППКЧ, являются актуальными, поскольку направлены на повышение безопасности клеточной терапии. Кроме того, непрерывно растущее число публикаций [3, 5, 17, 20], посвященных применению МКППКЧ для лечения негематологических заболеваний, при которых клетки применяются в больших дозах или длительными курсами, заставляет взглянуть на вопросы безопасности применения МКППКЧ с точки зрения классической фармакологии, т. е. рассмотреть их на предмет как острой, так и специфической токсичности.

Цель — изучить аллергенное и иммунотоксическое действие мононуклеарных клеток пуповинно-плацентарной крови человека в экспериментах на теплокровных животных.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на мышах, крысах и морских свинках, приобретенных в филиале НИЦ «Курчатовский институт» — ПИЯФ — ПЛЖ «Рапполово». Животные содержались в стандартных условиях вивария с освещением 12:12, вода и корм — *ad libitum*.

Подготовка МКППКЧ к использованию. Образец крови непосредственно перед введением размораживали на водяной бане при температуре $+37^\circ\text{C}$ и *ex tempore* отмывали от криосреды охлажденным до $+4^\circ\text{C}$ раствором — транспортной средой (ТС): 6 мл альбумина + 19 мл физиологического раствора + 25 мл реополиглокина («Уман альбумин» 25%, раствор для инфузий, альбумин человека; «Реополиглокин» (декстран, ср. мол. масса 30 000-40 000), раствор для инфу-

зий. Белмедпрепараты). В стерильных условиях клеточный материал переносили в пробирку на 50 мл и доводили охлажденной ТС до верхней метки (первые 10 мл при тщательном перемешивании, остальное — струйно). Суспензию клеток перемешивали и центрифугировали при +4 °С и 600 g в течение 10 мин. Отмывку клеток от криосреды проводили дважды. Осажденную клеточную массу разводили в необходимом объеме ТС и хранили при температуре тающего льда в течение всего периода применения (не более 2 часов).

Количество МКППКЧ рассчитывалось исходя из терапевтической дозировки для человека (600 млн клеток на 70 кг массы тела (м. т.)) и составляло, соответственно, 10-, 50- и 100-кратную дозу в пересчете на массу тела животного.

Оценка развития гиперчувствительности I типа проводилась на половозрелых морских свинок (*Cavia porcellus*) абиссинской породы. Статистические группы включали по 3 самца и 3 самки с массой тела 300–350 г. Непосредственно перед экспериментом животного усыпляли в CO₂-боксе и декапитировали, *ex tempore* извлекали трахею, которую разделяли на три части по 5–8 колец в каждой. Образцы трахей инкубировали 10 мин при 37±0,2 °С в отдельных пробирках, заполненных 10 мл раствора Рингера—Тироде состава: NaCl — 0,800%, KCl — 0,020%; CaCl₂ — 0,020%; NaHCO₃ — 0,010%; MgCl₂ — 0,010%; NaH₂PO₄ — 0,005%; глюкоза — 0,100%. По окончании инкубации по 3 образца трахеи помещали в 30 мл раствора Рингера—Тироде на чашку Петри с диаметром 10 см, термостатируемую при той же температуре (всего по 18 образцов из каждой группы эксперимента), где осуществлялась экспозиция тестируемыми веществами или клеточной суспензией в течение 1 мин. Первая группа: негативный контроль (введение в область трахеи ТС); вторая — экспериментальная (суспензия МКППКЧ); третья — позитивный контроль (раствор гистамина гидрохлорида (ТОО «Бурли»)). Конечные концентрации в области трахеи составляли: транспортная среда — 5%, МКППКЧ — 2,5%, гистамина дигидрохлорид — 0,002%. Весь процесс сопровождался видеофиксацией и контролем изменения размеров трахеи на масштабнo-координатной чертежной бумаге с разметкой 1 × 1 мм. Интенсивность развития реакции гиперчувствительности I типа фиксировали в виде «крестов»: резко положительная реакция «++++», положительная реакция «+++», слабopоложительная реакция «++», положительный результат в пределах погрешности «+», реакция отсутствует «-».

Определение антител к МКППКЧ осуществлялось на самцах мышей линии СВАхС57В2/6 с массой тела 20–25 г. Статистические группы включали по 10 особей в каждой. Первая группа: контроль 1 (внутривенное введение физиоло-

гического раствора из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); вторая — контроль 2 (внутривенное введение ТС из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); третья — экспериментальная 1 (МКППКЧ в количестве $8,57 \times 10^7$ /кг м. т., ресуспендированных в ТС из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); четвертая — экспериментальная-2 (МКППКЧ в количестве $4,28 \times 10^8$ /кг м. т., ресуспендированных в ТС из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); пятая — экспериментальная-3 (МКППКЧ в количестве $8,57 \times 10^8$ /кг м. т., ресуспендированных в ТС из расчета 0,1 мл/25 г м. т.); шестая — позитивный контроль (трехкратная иммунизация *Staphylococcus aureus* путем внутрибрюшинного введения в дозировке 5×10^5 КОЕ/животное каждые 72 часа, с последующим отбором крови из сердца под общим наркозом через 72 ч после последней инокуляции).

Через 21 день животных усыпляли в CO₂-боксе и из сердца отбирали кровь без антикоагулянта. Сыворотку крови инактивировали путем нагрева на водяной бане при температуре 53 °С в течение 30 мин. Реакцию связывания комплемента (РСК) осуществляли в тест-системе, включающей эритроциты барана (ЭБ), гемолизин (сыворотка иммунизированного ЭБ кролика), исследуемую сыворотку мышей и определяемый антиген (МКППКЧ или *S. aureus*) [4]. Результаты оценивали по отсутствию гемолиза ЭБ и фиксировали в виде «крестов»: резко положительная реакция «++++», положительная реакция «+++», слабopоложительная реакция «++», положительный результат в пределах погрешности «+», реакция отсутствует «-».

Оценка фагоцитарной активности нейтрофилов после введения МКППКЧ проводилась на крысах линии Wistar. Статистические группы включали по 6 самцов и 6 самок с массой тела 180–200 г. Первая группа — контроль (внутривенное введение ТС из расчета 0,5 мл/200 г м. т.); вторая группа — экспериментальная (МКППКЧ в количестве $8,57 \times 10^8$ /кг м. т., ресуспендированных в ТС из расчета 0,5 мл/200 г м. т.).

На 30-е сутки у животных под общим наркозом (Золетил, Франция) из сердца отбирали кровь, которую стабилизировали гепарином (ООО «Диамед-фарма», Россия), конечная концентрация 50 МЕ/мл, после чего животных усыпляли в CO₂-камере.

Стабилизированную кровь в объеме 100 мкл смешивали с 10 мкл 0,05% суспензии туши, приготовленной на изотоническом растворе хлорида натрия, и инкубировали при 37 °С ± 0,2 °С в течение 25 мин. После инкубации отбирали 3 мкл клеточной взвеси и готовили мазки на аппарате Vision (Австрия). Клетки фиксировали в течение 30 мин в холодной (1–4 °С) смеси, приготовленной из 96% спирта и 40% формалина в соотношении 10:1. По окончании фиксации препараты промывали дистиллированной водой и сушили.

Окрашивали 10–12 мин красителем Романовско-го—Гимзы. Стекла для просветления промывали в течение 5 сек 30%-ным раствором этанола. Анализировали по 100 нейтрофилов на каждое животное при 400-кратном увеличении с помощью светового микроскопа Primo Star (Zeiss). Рассчитывали фагоцитарный индекс — число нейтрофилов, поглотивших частицы туши, и фагоцитарное число — среднее количество поглощенных частиц.

Статистический анализ осуществляли в программном пакете Excel и с помощью онлайн-калькулятора (https://www.statskingdom.com/170median_mann_whitney.html). Определяли медиану (Me), верхний и нижний квартили ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Сравнение гипотез проводили по U-критерию Манна—Уитни и статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты

Оценка гиперчувствительности I типа к МКППКЧ на гладких мышцах трахеобронхиальной цепочки морских свинок

В ходе определения анафилактической активности концентрата мононуклеарных клеток и транспортной среды в процессе экспозиции исследуемых образцов признаков бронхоспазма выявлено не было. Результаты исследований суммированы в таблице 1.

Из таблицы 1 видно, что мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека в концентрации 2,5% по объему не оказывают анафилактической активности, оцениваемой по сокращению гладких мышц трахеобронхиальной цепочки морских свинок к предполагаемому аллергену. Половых особенностей в реактивности

к тестируемому на аллергенность клеткам не выявлено.

Оценка выработки антител к МКППКЧ у мышей

Анализ сыворотки крови мышей после введения мононуклеаров пуповинно-плацентарной крови человека показал отрицательную реакцию на антитела к тестируемому биоматериалу (табл. 2).

Из таблицы 2 следует, что слабая иммунная реакция на компоненты транспортной среды, отмечаемая в группе контроль 2, нивелируется на фоне введения мононуклеарных клеток пуповинно-плацентарной крови, в то время как у животных позитивного контроля отсутствие гемолиза в суспензии эритроцитов барана выявляет резко положительную реакцию.

Оценка влияния МКППКЧ на функциональную активность нейтрофилов

Введение крысам клеточного материала способствовало усилению фагоцитарной активности гранулоцитов (табл. 3).

Из таблицы 3 видно, что у самок на фоне введения ядродержащих клеток пуповинной крови статистически значимо ($p = 0,004$) возрастает фагоцитарная активность сегментоядерных нейтрофилов на 28%; у самцов увеличение исследуемого показателя составило 13%, а различия между контрольной и экспериментальной группами соответствуют уровню статистической тенденции ($p = 0,054$). Фагоцитарный индекс во всех экспериментальных группах оказался в зоне естественных флуктуаций нормативных величин.

Обсуждение

Результаты исследований МКППКЧ на аллергенность и иммунотоксичность, проведенных

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ АНАФИЛАКТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ МКППКЧ

TABLE 1. RESULTS OF ANAPHYLACTOGENIC ACTIVITY OF HUCBMCs

Параметр Option	Группы / Groups		
	Негативный контроль (ТС) Negative control (solvent)	Суспензия МКППКЧ Suspension of HUCBMCs	Позитивный контроль (гистамин) Positive control (histamine)
Самцы / Males			
n* =	3	3	3
Бронхоспазм Bronchospasm	-	-	+++
Самки / Females			
n =	3	3	3
Бронхоспазм Bronchospasm	-	-	+++

Примечание. * – n – количество животных.

Note. *, n, number of animals.

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ ПРОТИВ МКППКЧ МЕТОДОМ РСК

TABLE 2. ANTIBODY DETECTION AGAINST HUCBMCs WITH COMPLEMENT FIXATION TEST

Показатель Indicator	Контроль 1 (физ. р-р) Control 1 (saline)	Контроль 2 (ТС) Control 2 (solvent)	Эксперимент, введение МКППКЧ Experiment, administration of HUCBMCs			Позитивный контроль (<i>S. aureus</i>) Positive control (<i>S. aureus</i>)
			8,57 × 10 ⁷ / кг м. т. 8.57 × 10 ⁷ /kg b. w.	4,28 × 10 ⁸ / кг м. т. 4.28 × 10 ⁸ /kg b. w.	8,57 × 10 ⁸ / кг м. т. 8.57 × 10 ⁸ /kg b. w.	
n =	10	10	10	10	10	10
Наличие антител Antibodies	-	++	-	-	-	++++

ТАБЛИЦА 3. ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРЫС

TABLE 3. PHAGOCYTIC ACTIVITY OF RAT NEUTROPHILS

Группа Group	Фагоцитарный индекс, % Phagocytic index, %	Фагоцитарное число Phagocytic number
Самцы / Males		
Контроль, n = 6 / Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75}) Control, n = 6 / Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75})	51,5 (47,3-55,0)	2,0 (1,7-2,4)
Эксперимент, n = 6 / Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75}) Experiment, n = 6 / Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75})	58,0 (55,5-61,3)	1,8 (1,6-2,0)
Самки / Females		
Контроль, n = 6 / Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75}) Control, n = 6 / Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75})	44,0 (40,5-47,5)	1,8 (1,6-2,0)
Эксперимент, n = 6 / Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75}) Experiment, n = 6 / Ме (Q _{0,25} -Q _{0,75})	56,5 (53,8-60,8)*	1,8 (1,6-1,9)

Примечание. * – p < 0,01.

Note. *, p < 0.01.

в рамках протоколов доклинических испытаний фармакологических веществ, свидетельствуют об отсутствии негативных воздействий мононуклеаров на иммунную систему теплокровных, что обосновывает целесообразность дальнейшего (включая клинические исследования) изучения эффективности и безопасности комплекса гемопоэтических стволовых и мезенхимальных стромальных клеток из пуповинно-плацентарной крови человека.

Оценка анафилактической активности МКППКЧ, осуществленная на трахеобронхиальной цепочке морских свинок, позволила выявить отсутствие аллергической реакции к клеточной суспензии со стороны гладких мышц, обеспечивающих активные движения трахеи. Это не противоречит результатам, представленным в литературных источниках [10, 19], где доказано ингибирование выброса гистамина мастоцитами под воздействием стволовых клеток.

Отрицательная реакция связывания комплемента у гибридов мышей свидетельствует об отсутствии иммунореактивности со стороны В-клеточного звена организма-хозяина на клеточный трансплантат. Причиной данного со-

бытия может служить непосредственное ингибирование фракцией мезенхимальных клеток (входящих в состав МКППКЧ) пролиферации В-лимфоцитов в фазе G0/G1 посредством регуляции активности протеинкиназы p38 MAPK – ассоциируемой с индукцией апоптоза и контролем ключевых точек клеточного цикла (G2/M и G1/S) [13, 21]. В то же время известно, что клетки мезенхимального ряда способны ингибировать пролиферацию наивных Т-клеток и Т-клеток памяти даже при стимуляции поликлональными антигенами [14], что разрывает цепь в трехклеточной системе кооперации иммунцитов в гуморальном иммунном ответе и дополнительно обеспечивает отрицательную реакцию связывания комплемента. Это также может объяснять сниженную иммунореактивность мышей по отношению к компонентам транспортной среды, в которой человеческий белок может играть ту же роль, что и бычий сывороточный альбумин, используемый в классической патофизиологической модели сывороточной болезни у грызунов [7].

Объяснением возросшей фагоцитарной активности нейтрофилов в ответ на введение животным

МКППКЧ может служить выделение вводимыми стволовыми клетками цитокинов, таких как IL-6, IL-10 и др. [12], которые согласно литературным данным у человека и животных способны стимулировать фагоцитоз гранулоцитов [9].

Заключение

Согласно результатам исследований на трех видах грызунов (морские свинки, мыши, крысы),

мононуклеарные клетки пуповинно-плацентарной крови человека не обладают анафилактическим, а в 100-кратной от терапевтической дозировки ($8,57 \times 10^8$ кл/кг) — иммунотоксическим действием, но способствуют росту фагоцитарной активности нейтрофилов, что требует дальнейших доклинических и клинических испытаний эффективности и безопасности применения биоматериала с высоким лечебным потенциалом.

Список литературы / References

1. Гришина В.В. Пуповинная кровь — источник стволовых клеток // Онкогематология, 2007. № 3. С. 56-60. [Grishina V.V. Umbilical cord blood is a source of stem cells. *Onkogematologiya* = *Onkogematologiya*, 2007, no. 3. pp. 56-60. (In Russ.)]
2. Масчан А.А., Масчан М.А., Новичкова Г.А., Румянцев А.Г., Калинина И.И. Острые миелоидные лейкозы: клинические рекомендации. М., 2020. 55 с. Режим доступа: <https://oncology.ru/specialist/treatment/references/actual/586.pdf>. [Acute myeloid leukemia: Clinical recommendations]. Moscow, 2020. 55 p. Available at: <https://oncology.ru/specialist/treatment/references/actual/586.pdf>.
3. Морозова Я.В., Смирнов В.Н., Макаров И.В., Емелина Д.А. Применение ядросодержащих клеток пуповинной крови в лечении регрессивного аутизма: клинический случай // Consortium Psychiatricum, 2023. Т. 4, № 4. С. 39-47. [Morozova Ya.V., Smirnov V.N., Makarov I.V., Emelina D.A. The use of nucleated cord blood cells in the treatment of regressive autism: a clinical case. *Consortium psychiatricum* = *Consortium Psychiatricum*, 2023, Vol. 4, no. 4, pp. 39-47. (In Russ.)]
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 / Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. С. 94-115. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1. Ed. A.N. Mironov]. Moscow: Grif i K; 2012, pp. 94-115.
5. Смирнов В.Н., Незнанов Н.Г., Морозова Я.В., Макаров И.В., Емелина Д.А., Гасанов Р.Ф., Базанович С.А. Применение концентрата ядросодержащих клеток пуповинной крови у детей с аутизмом: безопасность и эффективность метода // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски, 2021. Т. 121, № 11-2. С. 31-37. [Smirnov V.N., Neznanov N.G., Morozova Ya.V., Makarov I.V., Emelina D.A., Gasanov R.F., Bazanovich S.A. The use of umbilical cord blood nucleated cell concentrate in children with autism: safety and effectiveness of the method. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova* = *S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2021, Vol. 121, no. 11-2, pp. 31-37. (In Russ.)]
6. Шаманская Т.В., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Ex vivo экспансия гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови (обзор литературы) // Онкогематология, 2012. № 1. С. 35-45. [Shamanskaya T.V., Osipova E.Yu., Romyancev S.A. Ex vivo expansion of umbilical cord blood hematopoietic stem cells (literature review). *Onkogematologiya* = *Onkogematologiya*, 2012, no. 1, pp. 35-45. (In Russ.)]
7. Arisz L., Noble B., Milgrom M., Brentjens J.R., Andres G.A. Experimental chronic serum sickness in rats. A model of immune complex glomerulonephritis and systemic immune complex deposition. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1979, Vol. 60, no. 1, pp. 80-88.
8. Barker J.N., Wagner J.E. Umbilical cord blood transplantation: current state of the art. *Curr. Opin. Oncol.*, 2002, Vol. 14, no. 2, pp. 160-164.
9. Gierlikowska B., Stachura A., Gierlikowski W., Demkow U. The impact of cytokines on neutrophils' phagocytosis and NET formation during sepsis—a review. *Int J Mol Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 9, 5076. doi: 10.3390/ijms23095076.
10. Glenn J.D., Whartenby K.A. Mesenchymal stem cells: Emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J. Stem Cells*, 2014, Vol. 6, Iss. 5, pp. 526-539.
11. Gluckman E., Broxmeyer H.A., Auerbach A.D., Friedman H.S., Douglas G.W., Devergie A., Esperou H., Thierry D., Socie G., Lehn P., Cooper S., English D., Kurtzberg J., Bard J., Boyse E.A. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N. Engl. J. Med.*, 1989, Vol. 321, pp. 1174-1178.
12. González-González A., García-Sánchez D., Dotta M., Rodríguez-Rey J.C., Pérez-Campo F.M. Mesenchymal stem cells secretome: The cornerstone of cell-free regenerative medicine. *World J. Stem Cells.*, 2020, Vol. 12, Iss. 12, pp. 1529-1552.
13. Han J., Wu J., Silke J. An overview of mammalian p38 mitogen-activated protein kinases, central regulators of cell stress and receptor signaling. *F1000Res.*, 2020, Vol. 9, F1000 Faculty Rev-653. doi: 10.12688/f1000research.22092.1.
14. Jiang W., Xu J. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Cell Prolif.*, 2020, Vol. 53, no. 1, e12712. doi: 10.1111/cpr.12712.
15. Niederwieser D., Baldomero H., Bazuaye N., Bupp C., Chaudhri N., Corbacioglu S., Elhaddad A., Frutos C., Galeano S., Hamad N., Hamidieh A.A., Hashmi S., Ho A., Horowitz M.M., Iida M., Jaimovich G., Karduss A., Kadera Y., Kröger N., Péffault de Latour R., Lee J.W., Martínez-Rolón J., Pasquini M.C., Passweg J., Paulson K., Seber A., Snowden J.A., Srivastava A., Szer J., Weisdorf D., Worel N., Koh M.B.C., Aljurf M., Greinix H., Atsuta Y., Saber W. One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. *Haematologica*, 2021, Vol. 107, no. 5, pp. 1045-1053.

16. Ray S.K., Mukherjee S. Clinical practice of umbilical cord blood stem cells in transplantation and regenerative medicine – prodigious promise for imminent times. *Recent Pat. Biotechnol.*, 2022, Vol. 16, no. 1, pp. 16-34.
17. Romanov Y.A., Tarakanov O.P., Radaev S.M., Dugina T.N., Ryaskina S.S., Darevskaya A.N., Morozova Ya.V., Khachatryan W.A., Lebedev K.E., Zotova N.S., Burkova A.S., Sukhikh G.T., Smirnov V.N. Human allogeneic AB0/Rh-identical umbilical cord blood cells in the treatment of juvenile patients with cerebral palsy. *Cytotherapy*, 2015, Vol. 17, no. 7, pp. 969-978.
18. Sanz J., Veys P., Rocha V. Umbilical cord blood transplantation in children and adults. In: Carreras E., Dufour C., Mohty M., Kröger N., editors. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*. 7th edition. Cham (CH): Springer; 2019. Chapter 64. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554021/>.
19. Sun L., Sha J., Meng C., Zhu D. Mesenchymal stem cell-based therapy for allergic rhinitis. *Stem Cells Int.*, 2020, Vol. 2020, 2367524. doi: 10.1155/2020/2367524.
20. Ternovoy S., Ustyuzhanin D., Morozova Y., Shariya M., Roldan-Valadez E., Smirnov V. Functional MRI evince the safety and efficacy of umbilical cord blood cells therapy in patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 2020, Vol. 224, pp. 175-177.
21. Thornton T.M., Rincon M. Non-classical p38 map kinase functions: cell cycle checkpoints and survival. *Int. J. Biol. Sci.*, 2009, Vol. 5, no. 1, pp. 44-51.
22. Vanegas D., Galindo C.C., Páez-Gutiérrez I.A., González-Acero L.X., Medina-Valderrama P.T., Lozano J.C., Camacho-Rodríguez B., Perdomo-Arciniegas A.M. Human Leukocyte Antigen and Red Blood Cells Impact Umbilical Cord Blood CD34+ Cell Viability after Thawing. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 19, 4875. doi: 10.3390/ijms20194875.

Авторы:

Скупневский С.В. — д.б.н., заведующий лабораторией системного экологического анализа ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Республика Северная Осетия — Алания, Россия

Савельев Р.В. — лаборант лаборатории системного экологического анализа ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Республика Северная Осетия — Алания, Россия

Пушаева Е.Г. — младший научный сотрудник лаборатории системного экологического анализа ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова», г. Владикавказ, Республика Северная Осетия — Алания, Россия

Морозова Я.В. — к.п.н., старший научный сотрудник ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»; старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Радеев С.М. — к.м.н., старший научный сотрудник ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Смирнов В.А. — к.м.н., старший научный сотрудник ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Гринь А.А. — д.м.н., член-корр. РАН, профессор, руководитель клиники неотложной нейрохирургии ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Authors:

Skupnevskiy S.V., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Systemic Environmental Analysis, North Ossetian State University, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia — Alania, Russian Federation

Saveljev R.V., Laboratory Assistant, Laboratory of Systemic Environmental Analysis, North Ossetian State University, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia — Alania, Russian Federation

Pukhaeva E.G., Junior Research Associate, Laboratory of Systemic Environmental Analysis, North Ossetian State University, Vladikavkaz, Republic of North Ossetia — Alania, Russian Federation

Morozova Ya.V., PhD (Psychology), Senior Research Associate, N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department; Senior Research Associate, E. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

Radaev S.M., PhD (Medicine), Senior Research Associate, N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

Smirnov V.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

Grin A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Emergency Neurosurgery, N. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation