

*И.В. Майбородин, А.И. Шевела, М.Е. Рягузов,
Р.В. Маслов, Е.Л. Лушников*

ПЕРСПЕКТИВЫ И ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Аннотация. Проведен анализ собственных публикаций, посвященных изучению клеточных технологий. Обнаружено, что в некоторых случаях мультипотентные стромальные клетки (МСК) усиливают склероз и сами могут явиться причиной развития соединительной ткани. Является актуальным применение МСК для ускорения развития сосудов грануляционной ткани, так как МСК сами непосредственно участвуют в ангиогенезе, дифференцируясь в клетки сосудистых оболочек. После хирургических операций это может способствовать более быстрому очищению раны от детрита и более раннему началу репаративных процессов. Нами не было обнаружено дифференцирования инъецированных МСК в высокоспециализированные клетки органных структур. Введенные МСК, а также их детрит из тканей фагоцитируются макрофагами, которые мигрируют в регионарные лимфатические узлы, в абсорбции МСК, попавших в кровь, принимают участие паравазальные фагоциты. Также возможно распространение введенных локально в ткани МСК в легкие и далее по всему организму. Отмечена возможность элиминации детрита МСК наружу через альвеолы легких, но не было найдено элиминации МСК через печень, почки и селезенку. В качестве побочных эффектов МСК мы зарегистрировали только прогрессирование восходящей инфекции мочевых путей: в почках экспериментальных животных после инъекции МСК в паховую область, что, скорее всего, обусловлено иммуномодуляторным эффектом клеточной терапии.

Ключевые слова: мультипотентные стволовые клетки, регенерация, ангиогенез, элиминация стволовых клеток, деструкция стволовых клеток, иммуномодуляторный эффект клеточной терапии, осложнения применения стволовых клеток, макрофаги, флюоресценция, световая микроскопия

МАЙБОРОДИН Игорь Валентинович – д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточной биологии и цитологии Института молекулярной патологии и патоморфологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Адрес: Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2; тел. +7(383)27495807; e-mail: director@frcftm.ru <http://orcid.org/0000-0002-8182-5084>

MAIBORODIN Igor Valentinovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Cell Biology and Cytology, Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation. Address: 630117, Russia, Novosibirsk, ul. Timakova, 2; tel. +7(383)27495807; e-mail: director@frcftm.ru; <http://orcid.org/0000-0002-8182-5084>

ШЕВЕЛА Андрей Иванович – д.м.н., профессор, заведующий отделом «Центр новых медицинских технологий» ИХБФМ СО РАН. Адрес: Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 8; тел. +7(383)3635151; e-mail: niboch@niboch.nsc.ru <http://orcid.org/0000-0002-3164-9377>

SHEVELA Andrey Ivanovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department “Center for New Medical Technologies”, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. Address: 630090, Russia, Novosibirsk, Acad. Lavrentieva, 8; tel. +7(383)3635151; e-mail: niboch@niboch.nsc.ru; <http://orcid.org/0000-0002-3164-9377>

I.V. Maiborodin, A.I. Shevela, M.E. Ryaguzov, R.V. Maslov, E.L. Lushnikova

THE PROSPECTS AND LIMITATIONS OF APPLYING CELL TECHNOLOGIES IN REGENERATIVE MEDICINE

Abstract. A survey of personal publications on cellular technology researches for the past 10 years was made. It was found that in some cases, multipotent stem cells (MSCs) stimulate sclerosis and can cause the development of connective tissue. The application of MSCs for acceleration of the development of granulation tissue vessels is indicated, since MSCs are directly involved in angiogenesis by differentiation into vascular wall cells; this can contribute to a faster clearance of detritus from the wound and an earlier onset of repair processes after surgeries. Despite the literature data, no differentiation of the injected MSCs into highly specialized cells of organ structures was observed. Injected MSCs, as well as their detritus, are phagocytized from tissues by macrophages, which migrate to regional lymph nodes; perivascular phagocytes take part in the absorption of MSCs from the bloodstream. MSCs locally administrated into tissues may spread into lungs and then throughout the body. The possibility of MSC detritus elimination through the pulmonary alveoli outside was noted, but contrary to the literature, the MSC elimination through the liver, kidneys and spleen was not found. The only side effect of MSCs that we have recorded is the progression of ascending urinary tract infection in rat kidneys after the injection of MSCs into the inguinal area, which is most likely associated with the immunomodulatory effect of cell therapy.

Keywords: multipotent stem cells, regeneration, angiogenesis, elimination of stem cells, destruction of stem cells, immunomodulatory effect of cell therapy, complications of stem cell use, macrophages, fluorescence, light microscopy.

РЯГУЗОВ Максим Евгеньевич – к.м.н., научн. сотрудник лаборатории управления здоровьем ИХБФМ СО РАН. Адрес: Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 8; тел. +7(383)3635151; e-mail: niboch@niboch.nsc.ru <https://orcid.org/0000-0002-5279-3650>

RYAGUZOV Maxim Evgenievich – Candidate of Medical Sciences, researcher, Laboratory of Health Management, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 630090, Russia, Novosibirsk, Acad. Lavrentieva, 8; tel. +7(383)3635151; e-mail: niboch@niboch.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5279-3650>

МАСЛОВ Роман Владимирович – к.м.н., научн. сотрудник лаборатории клеточной биологии и цитологии Института молекулярной патологии и патоморфологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Адрес: Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2; тел. +7(383)27495807; e-mail: director@frcftm.ru <http://orcid.org/0000-0003-4472-859x>

MASLOV Roman Vladimirovich – Candidate of Medical Sciences, researcher, Laboratory of Cell Biology and Cytology, Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation. Address: 630117, Russia, Novosibirsk, ul. Timakova, 2; tel. +7(383)27495807; e-mail: director@frcftm.ru; <http://orcid.org/0000-0003-4472-859x>

ЛУШНИКОВА Елена Леонидовна – д.б.н., профессор, директор Института молекулярной патологии и патоморфологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Адрес: Россия, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2; тел. +7(383)27495807; e-mail: director@frcftm.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3269-2465>

LUSHNIKOVA Elena Leonidovna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Director of the Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation. Address: Russia, 630117, Novosibirsk, ul. Timakova, 2; tel. +7(383)27495807; e-mail: director@frcftm.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3269-2465>

Введение.

Попытки воздействия на регенерацию с использованием мультипотентных стромальных (МСК) или стволовых клеток показывают переменные и противоречивые результаты. Общее мнение сходится на том, что повышение уровня контроля и эффективности доставки трансплантированных МСК в необходимый участок тела может улучшить успешность лечения. Прогресс терапии стволовыми клетками движется к клиническим испытаниям в различных областях медицины. Тем не менее, перевод клеточной терапии в практическую медицину привел к необходимости разработки методов отслеживания МСК, изучения их миграции, локализации, результативности приживления после трансплантации и взаимодействия с микроокружением мишеней в организме.

МСК оказывают разнообразные биологические эффекты, влияя на ткани реципиента посредством механизмов, которые требуют нахождения этих клеточных элементов в непосредственной близости от области повреждения.

Оценка биораспределения МСК важна для определения доставки клеток до ткани-мишени и времени, в течение которого эти клеточные элементы находятся в каждой области, что является необходимым для установления длительности полученных результатов. Факторы, влияющие на это взаимодействие, включают источник МСК, условия культивирования *in vitro*, путь введения и специфические проблемы, относящиеся к характеру патологического процесса. Понимание этих моментов может создать стратегии для изменения распространения и перспектив выживания МСК, что, по-видимому, усилит их терапевтическое действие. Лучшее осознание закономерностей биодистрибуции и судьбы МСК в организме добавит важные дополнительные данные о безопасности применения клеточных технологий и может раскрыть пути усиления или супрессии распределения, а также увеличения срока жизни и эффективности МСК в месте использования [1, 2, 3].

Данные литературы о биодистрибуции МСК после любого способа введения в организм противоречивы. Большинство исследователей отмечают, что введенные через венозную систему МСК первоначально попадают в легкие [3, 4, 5] и только потом распространяются по остальным органам и тканям. Это хорошо согласуется с закономерностями циркуляции крови по организму, когда венозная кровь, пройдя через сердце, сразу попадает в легкие с обширной сетью достаточно узких капилляров с тонкими стенками, где эти МСК могут задерживаться. После изучения опубликованных данных возникает множество вопросов. Задержка МСК в капиллярах легких сводится просто к медленному механическому прохождению крупных клеточных элементов через несоответствующий по размерам более узкий капилляр или МСК адсорбируются фагоцитами? Могут ли макрофаги легких, накопив в своих фагосомах меченый материал МСК, потом диссеминироваться с кровью по всем органам и тканям, имитируя распространение использованных МСК?

Некоторые работы содержат данные, что МСК после внутривенной инъекции в большем количестве оказываются в печени [6, 7], но так и остается непонятным, как эти клеточные элементы, минуя легкие, могут оказаться в других органах. Существуют и противоречия в работах, сообщающих об элиминации введенных МСК, согласно одному мнению, в этом участвует печень [8], тогда как другие работы описывают выведение МСК почками [9]. Имеются данные об апоптозе МСК [9, 10, 11] или макрофагальном фагоцитозе [12, 13, 14].

Диссеминация введенных МСК зависит от множества причин. Этими факторами являются размер самих инъецированных клеточных элементов и соответствие их диаметру капилляров [4, 5], куда эти клетки попадают; способ доставки в организм – при системной (внутривенной) инфузии МСК сразу и в большом количестве оказываются в легких [3, 15, 16], при внутриартериальной – распределяются по региону кровоснабжения [16, 17, 18] и только потом попадают в легкие, при тканевой инъекции можно создать максимально необходимую концентрацию МСК в месте патологического процесса или участке повреждения, но этот путь часто является

инвазивным [9]; тип и место повреждения ткани также могут влиять на диссеминацию МСК. Любой способ введения МСК в организм имеет свои преимущества и недостатки, свои показания и противопоказания. Меняя факторы, связанные с распространением МСК, можно влиять и на само распределение, ускорять и усиливать накопление этих клеточных элементов в одних тканях, замедлять и ослаблять – в других, а также облегчать и затруднять (даже блокировать) прохождение через капиллярные сети и мимо иммунокомпетентных клеток.

Для увеличения времени существования и успешного приживания введенных в организм МСК может служить супрессия иммунитета [19 – 25]. Использование МСК на таком фоне является показанным с целью восстановления поврежденных тканей после радиационного воздействия, химиотерапии, иммунодефицита различного происхождения, однако ингибирование иммунной защиты только для улучшения результатов трансплантации МСК вряд ли можно считать целесообразным, особенно на фоне большого количества работ, описывающих иммуномодуляторное или даже иммуносупрессивное действие как самих МСК, так и их экстрацеллюлярных везикул.

Многие исследователи сообщают о хоминге введенных МСК к тканям с патологическим процессом [9, 26, 27], однако такая тропность МСК к поврежденным тканям хорошо объясняется макрофагальным фагоцитозом МСК. Более логичным выглядит не хоминг МСК в патологически измененные ткани, а миграция макрофагов с детритом МСК к местам деструкции. К участкам повреждения мигрируют не сами МСК, а макрофаги с детритом МСК, и они туда направляются для продолжения фагоцитоза и лизиса нежизнеспособных тканей, участия в регенерации или образовании соединительной ткани. Экстрацеллюлярные везикулы, цитокины и другие биологически активные вещества детрита МСК в макрофагах оказывают ускоряющее репарацию действие, которое приписывают самим МСК, также не исключено, что биологически активный детрит МСК в макрофагах определенным образом меняет функции и активность самих фагоцитов, влияя на ход репаративного процесса и течение воспаления.

Можно сделать заключение, что биораспределение МСК после любого способа введения в организм является неизученным, а данные литературы противоречивы.

В качестве неожиданного и иногда нежелательного эффекта МСК можно отметить возможность ангиогенеза в тканях, отдаленных от места инъекции этих клеточных элементов. Через неделю после введения МСК с трансфицированным геном светящегося белка GFP в паховую область у 5 крыс из 24 в паранодальной жировой ткани паховых лимфатических узлов (ЛУ) были обнаружены мелкие сосуды капиллярного типа с ярким свечением клеток в стенке. Рядом с сосудами ярко флюоресцировали единичные макрофаги [28].

Скорее всего сосуды с ярким свечением клеточных элементов в их оболочках являются вновь образованными из введенных МСК с трансфицированным геном GFP. Существует вероятность, что инъекцированные с МСК принимают участие в образовании не только кровеносных, но и лимфатических сосудов. Участие введенных МСК в ангиогенезе в отдаленных от места инъекции этих клеточных элементов тканях является свидетельством того, что указанные МСК и их детрит могут частично попадать в кровеносное и лимфатическое русло и оказываться в регионарных ЛУ, а также, возможно, диссеминироваться по всему организму. В таком случае существует вероятность того, что свечение паравазальных макрофагов обусловлено не только их аутофлюоресценцией, но и поглощением, фильтрацией из просвета сосудов МСК и их детрита. В литературе есть данные о приобретении макрофагами способности к люминесценции в результате фагоцитоза флюоресцирующих объектов.

У крыс без изменений кровотока после инъекции МСК с трансфицированным геном GFP и дополнительно окрашенными Vybrant® CM-Dil мембранами со 2-й недели и вплоть до конца эксперимента до 5 недели в ряде случаев отдельные мелкие включения в крупных паравазальных клетках паранодальных тканей паховых ЛУ значительно более ярко флюоресцировали при использовании родаминового фильтра [29].

У животных с лигированной веной и введением МСК только с 3-й недели и на все последующие сроки в тканях рядом с ЛУ в паравазально расположенных светящихся макрофагах часто выявляли присутствие небольшого числа очень мелких включений. Причем эти включения иногда более интенсивно светились при установке родаминового фильтра, в других случаях – на фоне применения фильтра Alexa 488 [29].

Необходимо отметить, что в некоторых наблюдениях в ближайшие сроки после операции в лимфоидной паренхиме, непосредственно прилегающей к краевому синусу паховых ЛУ животных, после инъекции МСК как без изменений кровотока, так и после острой локальной венозной блокады, в отдельных крупных клетках включения флюоресцировали несколько ярче при использовании фильтра для родамина [29].

Наличие включений с флюоресценцией при использовании родаминового фильтра в паравазальных макрофагах связано с фагоцитозом МСК и их детрита, меченых мембранным красителем Vybrant® CM-Dil, из проходящих в клетчатке вокруг паховых ЛУ кровеносных и лимфатических сосудов. Во время нахождения в сосудистом русле, особенно в микроциркуляторных отделах, где тонкие и часто однослойные стенки, возможно захватывание макрофагами антигенных веществ из просвета сосудов, в том числе МСК и их окрашенного детрита. В процессе фагоцитоза и лизиса МСК и их дебриса мембранный краситель Vybrant® CM-Dil накапливается во все большей концентрации в фагоцитах, по-видимому, окрашивая и их мембраны, в первую очередь, фagosомы. В результате этого макрофаги постепенно приобретают все большую возможность к флюоресценции при воздействии ультрафиолетовым светом через родаминовый фильтр.

Возможно, детрит МСК проникает не только в кровеносное русло, но и в лимфу, откуда также может быть поглощен макрофагами, присутствующими возле лимфатических сосудов, в том числе и в капсуле паховых ЛУ. Лимфа при поступлении в орган попадает в краевой синус, откуда через систему клапанов распространяется по промежуточным синусам. И в тех, и в других синусах расположено множество макрофагов, которые могут фагоцитировать окрашенный Vybrant® CM-Dil детрит и в результате этого приобретать способность к специфическому свечению.

Следует особо остановиться на случаях, когда в одном и том же макрофаге одновременно присутствуют и зеленые, и красные включения (более интенсивно светящиеся или при использовании, соответственно, фильтра Alexa 488 или фильтра для родамина). Поскольку введенные МСК содержали не только белок GFP, но и краситель мембран, видимый при использовании родаминового фильтра, при фагоцитозе этих клеток одни и те же лизосомы фагоцитов должны светиться и зеленым цветом за счет белка GFP, и красным, из-за присутствия Vybrant® CM-Dil и окрашенных им мембран. Вследствие окрашивания различных фagosом одного и того же макрофага только красным или только зеленым цветом не исключено, что различные структуры фагоцитированных МСК подвергаются деструкции в отдельных лизосомах, видимо, из-за необходимости применения разных специфических ферментов.

Таким образом, еще раз подтверждено участие макрофагов в инактивации введенных в ткани извне МСК, даже аутологичных, и их детрита. Фагоцитоз макрофагами МСК и их дебриса из просвета сосудов также доказывает возможность миграции этих МСК в сосудистое русло после введения их в ткани.

После непосредственного введения МСК в интактную мышечную ткань через неделю в 2 наблюдениях, спустя 2 недели у половины животных, к 3-ей неделе в 4 случаях из 12 были найдены склеротические изменения и выраженная клеточная инфильтрация по ходу межмышечных перегородок. Интенсивно светящиеся при использовании родаминового фильтра клетки были вытянуты, часто имели фибробластоподобную морфологию, и в них флюоресцировали включения разного размера. Иммуногистохимическое окрашивание показало положительную реакцию с антителами против CD68-антигена не у всех клеточных элементов, но таких клеток было достаточно много [30].

По-видимому, большинство введенных в ткани МСК сохраняют жизнеспособность очень короткое время, т.е. при деструкции, даже частичной, введенных МСК, детрит фагоцитируется макрофагами. При макрофагальном лизисе МСК происходит накопление мембранного красителя в макрофагах. Таким образом макрофаги приобретают способность к красной флюоресценции при облучении их ультрафиолетовым светом с фильтром для родамина.

Любое хирургическое вмешательство сопровождается склеротической трансформацией тканей, обусловленной прямым повреждением, репарацией и формированием рубца. Инъекция МСК в место хирургической операции приводит к формированию более обширного рубца, чем после операции без использования клеточных технологий.

Это может произойти, во-первых, за счет привлечения иммунокомпетентных клеток и развития асептического воспаления, так как не все вводимые МСК жизнеспособны, большая часть этих клеток погибает сразу после попадания в ткани. К тканям с большой концентрацией детрита активно мигрируют лейкоциты, запуская и поддерживая воспалительный процесс. Воспалительная реакция сопровождается развитием соединительной ткани сначала для отграничения поврежденных структур, а потом для их замещения, рубцевания. Во-вторых, очень вероятной является возможность дифференцирования вводимых в ткани МСК непосредственно в фибробласты.

Таким образом, МСК при введении в ткани могут индуцировать развитие склероза. Когда требуется ускоренное развитие соединительной ткани, быстрое рубцевание, такой эффект клеточной терапии является положительным и применение МСК целесообразно.

Через неделю после инъекции МСК в интактные ткани паховой области возле сосудов легких появились единичные клеточные элементы разных форм и размеров с преимущественным свечением отдельных включений в цитоплазме в условиях применения фильтра для родамина. Спустя 2 недели таких светящихся клеток становится значительно больше. К 3 – 4-м неделям их количество увеличивается, также нарастает интенсивность флюоресценции. Следует отметить, что, начиная со срока наблюдения в 3 недели, подобные светящиеся клетки появляются не только рядом с сосудами, но и в стенках альвеол. На 5-й неделе численность клеток с более интенсивным свечением при установке фильтра для родамина несколько уменьшается [31, 32].

Скорее всего, такие флюоресцирующие клетки являются макрофагами, а светящиеся включения – лизосомами. МСК, меченые Vybrant® CM-Dil, после введения в интактные ткани проникают в кровоток, вместе с током крови через сердце попадают в легкие, где адсорбируются из крови многочисленными макрофагами. При этом лизосомы макрофагов получают способность светиться при воздействии ультрафиолетовым светом через родаминовый фильтр за счет фагоцитированного материала.

Также существует возможность, вследствие непродолжительного времени существования введенных МСК в тканях, диссеминации не самих клеток, а их детрита посредством крови в малый круг кровообращения, откуда этот меченый Vybrant® CM-Dil дебрис МСК также адсорбируется макрофагами. В любом случае, ткани и структуры легких содержат не сами меченые клетки с относительно равномерно окрашенной Vybrant® CM-Dil цитоплазмой, а клеточные элементы с четко ограниченными флюоресцирующими включениями.

В аксиллярных и брыжеечных ЛУ первые единичные объекты с красным свечением при использовании фильтра для родамина появляются только через 3 недели после инъекции: в отдельных макрофагах в просвете мозговых синусов. К 4-й неделе были найдены клеточные элементы с более интенсивной люминесценцией на фоне применения родаминового фильтра уже во всех структурах органов. Возможно, что после попадания в легкие большого объема детрита МСК, меченого Vybrant® CM-Dil, не все фрагменты адсорбируются легочными макрофагами. Какая-то часть дебриса проходит через легкие и диссеминируется по всему организму. Эти фрагменты МСК попадают в ткани, и оттуда вместе с током лимфы поступают в различные ЛУ [32].

Через неделю после инъекции МСК в интактную печень в легких объекты с преобладанием свечения в условиях установки фильтра для родамина уже присутствовали в большом количестве. Такие объекты были представлены группами ярко флюоресцирующих овальных структур с четкими границами и разным размером. Иногда частицы со свечением были расположены в просвете альвеол и даже на эпителии бронхов, что приводит к заключению о возможности элиминации детрита МСК или макрофагов с этим детритом через легкие наружу [33].

В почках животных окрашенные Vybrant® CM-Dil клеточные элементы были найдены спустя 1; 2 и 3 недели, они были расположены или внутри сосудов – на эндотелии, или рядом с ними. Причем светились данные клеточные элементы не равномерно и целиком, а люминесцировали включения [33].

В аксиллярных ЛУ первые объекты с более ярким свечением при использовании фильтра для родамина были обнаружены только на 3 и 4 неделях. Такие объекты представляли собой скопления четко очерченных мелких овальных включений в макрофагах. Подобным образом флюоресцирующие фагоциты были найдены в капсуле ЛУ, недалеко от сосудов, среди клеток в просвете мозговых синусов и среди клеточных элементов герминативных центров [33].

По-видимому, при прямой инъекции в печень, которая является паренхиматозным органом, вводимый под давлением раствор с клетками раздвигает ткани органа и повреждает синусоиды. В результате повреждения возможно проникновение вводимых под давлением МСК в кровеносное русло и диссеминация через легкие по всему организму, в том числе и попадание в почки и ЛУ.

На всех сроках наблюдения, начиная с 1 недели после инъекции МСК в печень, во всех структурах селезенки, в том числе в капсуле и соединительной ткани ворот, было много клеточных элементов, с сильной преимущественной флюоресценцией при использовании родаминового фильтра. В таких светящихся красным цветом клетках люминесцировали четко очерченные овальные включения [33].

Уже на 1-й неделе после введения МСК в печень рядом с капсулой брыжеечных ЛУ появляются единичные клеточные элементы с сильной флюоресценцией цитоплазмы при использовании родаминового фильтра [33].

При введении в печень под давлением не исключено вытекание части взвеси через инъекционное отверстие и распространение клеточных элементов по всей брюшной полости. И уже из брюшной полости МСК через париетальную и висцеральную брюшину проникают в селезенку, мезентериальные ЛУ и, видимо, другие ткани брюшной полости. Также не исключен фагоцитоз детрита МСК перитонеальными макрофагами с их распространением по всем органам брюшной полости.

После введения МСК в неповрежденную почку в легких на все сроки эксперимента было обнаружено большое число макрофагов, флюоресцирующих более интенсивно при использовании родаминового фильтра.

В печени окрашенные Vybrant® CM-Dil объекты появились уже на 1-й неделе. При этом клеточные элементы со значительным преобладанием флюоресценции при использовании родаминового фильтра сразу были найдены в большом количестве, они располагались в паренхиме печени поодиночке по ходу синусоидов, имели различную форму, чаще многоугольную и с отростками, и визуально не были похожи на гепатоциты. Люминесценция таких объектов осуществлялась вследствие свечения многочисленных разных по размерам включений. К 2-й неделе количество подобных флюоресцирующих клеток возросло и оставалось на таком высоком уровне в течение последующих сроков наблюдения.

Скорее всего, купферовские клетки, как и макрофаги других органов и тканей, могут фагоцитировать окрашенные МСК или их детрит из кровотока. Расположение флюоресцирующих клеток Купфера по ходу синусоидов свидетельствует, что адсорбция светящихся объектов произошла из просвета именно этих отделов сосудов печени, где более тонкие стенки.

В паренхиме и в толще капсулы селезенки на 1 неделе появилось большое количество клеточных элементов, флюоресцирующих намного ярче при использовании фильтра для родamina за счет люминесценции многочисленных включений. Спустя 2 недели численность таких светящихся объектов возросла. Однако через 3 – 4 недели содержание клеток, окрашенных Vybrant® CM-Dil, резко снизилось.

Спустя неделю после инъекции МСК в неповрежденную почку в паракортикальной зоне мезентериальных ЛУ были найдены ярко светящиеся в условиях применения фильтра для родamina клеточные элементы. Иногда было заметно, что такие светящиеся объекты располагались на краю промежуточного синуса. Скорее всего, такими интенсивно флюоресцирующими клетками являются МСК.

Почка является органом с хорошим кровоснабжением. Поэтому инъекция в интактную почку под давлением неизбежно приведет к попаданию какой-то части введенных МСК в кровоток. Это возможно как вследствие прямого попадания иглой в один из многочисленных сосудов паренхимы органа, так и в результате повреждения сосудов при введении в орган взвеси под давлением. Оказавшиеся в крови окрашенные Vybrant® CM-Dil МСК или их детрит транспортируются в легкие, и затем, после частичной адсорбции макрофагами, распространяются по всем органам и тканям.

После введения МСК в ткани с предварительной блокадой венозного кровотока, резекцией части доли печени или каудальной половины почки в кровеносное русло, легкие, а затем и структуры большого круга кровообращения, детрит инъецированных клеточных элементов поступает или позже, или в меньшем объеме, чем после трансплантации МСК в эти же самые интактные ткани и органы.

В связи с введением МСК в ткани после операции, по-видимому, часть этих клеток оказывается в кровяном сгустке, образующемся в поврежденных структурах, также возможно депонирование введенных клеток в области формирующегося рубца. Кроме того, повреждение тканей запускает асептическую воспалительную реакцию, сопровождающуюся блокадой микроциркуляции. Эти возможные причины могут являться факторами, препятствующими массивному попаданию МСК и их детрита в кровеносное русло.

В качестве еще одного доказательства диссеминации МСК по организму необходимо обратить внимание на иммуномодуляторный эффект клеточной терапии, обнаруженный в отдаленных органах. Начиная со 2-й недели и до конца эксперимента, после инъекции МСК в паховую область в мозговом веществе почек были найдены микроорганизмы. Также были зарегистрированы другие патологические изменения мозгового вещества: слабая лимфоцитарная или даже нейтрофильная инфильтрация, полнокровие, диапедез единичных эритроцитов и признаки тромбоза. В данных случаях следует учитывать и иммуномодулирующее, и даже иммуносупрессивное влияние как самих МСК, так и их детрита, содержащего множество экзосом и других экстрацеллюлярных везикул. Этот эффект может способствовать прогрессированию инфекции мочевых путей и объясняет отсутствие подобных находок на более ранние сроки наблюдения [32].

Таким образом, после тканевой инъекции МСК происходит диссеминация этих клеточных элементов и их детрита по всему организму посредством кровотока. Распространение МСК по организму может сопровождаться иммуномодуляторным эффектом с прогрессированием инфекционных процессов. В связи с этим необходимо тщательно обследовать пациентов перед лечением с применением клеточных технологий для профилактики обострения хронических инфекционных заболеваний, в том числе и скрытых, а также потенцирования развития невыявленных злокачественных опухолей.

Применение клеточных технологий должно осуществляться только по строгим показаниям и с учетом всех противопоказаний, возможных осложнений и неблагоприятных эффектов.

Литература

1. Zheng Y., Huang J., Zhu T., Li R., Wang Z., Ma F., Zhu J. Stem cell tracking technologies for neurological regenerative medicine purposes. *Stem Cells Int.* 2017;2017:2934149. doi: 10.1155/2017/2934149.
2. Masterson C.H., Curley G.F., Laffey J.G. Modulating the distribution and fate of exogenously delivered MSCs to enhance therapeutic potential: knowns and unknowns. *Intensive Care Med Exp.* 2019;7(Suppl 1):41. doi: 10.1186/s40635-019-0235-4.
3. Nakada N., Kuroki Y. Cell tracking of chromium-labeled mesenchymal stem cells using laser ablation inductively coupled plasma imaging mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2019;33(20):1565-1570. doi: 10.1002/rcm.8505.
4. Eggenhofer E., Benseler V., Kroemer A., Popp F.C., Geissler E.K., Schlitt H.J., Baan C.C., Dahlke M.H., Hoogduijn M.J. Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. *Front Immunol.* 2012;3:297. doi: 10.3389/fimmu.2012.00297.
5. Gonçalves F.D.C., Luk F., Korevaar S.S., Bouzid R., Paz A.H., López-Iglesias C., Baan C.C., Merino A., Hoogduijn M.J. Membrane particles generated from mesenchymal stromal cells modulate immune responses by selective targeting of pro-inflammatory monocytes. *Sci Rep.* 2017;7(1):12100. doi: 10.1038/s41598-017-12121-z.
6. Lei Y., Tang H., Yao L., Yu R., Feng M., Zou B. Applications of mesenchymal stem cells labeled with Tat peptide conjugated quantum dots to cell tracking in mouse body. *Bioconjug Chem.* 2008 Feb;19(2):421-7.
7. Takasaki Y., Watanabe M., Yukawa H., Sabarudin A., Inagaki K., Kaji N., Okamoto Y., Tokeshi M., Miyamoto Y., Noguchi H., Umemura T., Hayashi S., Baba Y., Haraguchi H. Estimation of the distribution of intravenously injected adipose tissue-derived stem cells labeled with quantum dots in mice organs through the determination of their metallic components by ICPMS. *Anal Chem.* 2011;83(21):8252-8. doi: 10.1021/ac202053y.
8. Violatto M.B., Santangelo C., Capelli C., Frapolli R., Ferrari R., Sitia L., Tortarolo M., Talamini L., Previdi S., Moscatelli D., Salmona M., Introna M., Bendotti C., Bigini P. Longitudinal tracking of triple labeled umbilical cord derived mesenchymal stromal cells in a mouse model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Stem Cell Res.* 2015;15(1):243-53. doi: 10.1016/j.scr.2015.06.010.
9. Detante O., Moisan A., Dimastromatteo J., Richard M.J., Riou L., Grillon E., Barbier E., Desruet M.D., De Fraipont F., Segebarth C., Jaillard A., Hommel M., Ghezzi C., Remy C. Intravenous administration of 99mTc-HMPAO-labeled human mesenchymal stem cells after stroke: in vivo imaging and biodistribution. *Cell Transplant.* 2009;18(12):1369-79. doi: 10.3727/096368909X474230.
10. Bian S.Y., Cui H., Zhang X.N., Qi L.P., Li D.Y. Mesenchymal stem cells release membrane microparticles in the process of apoptosis. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2012;20(2):453-457.
11. Galleu A., Riffó-Vasquez Y., Trento C., Lomas C., Dolcetti L., Cheung T.S., von Bonin M., Barbieri L., Halai K., Ward S., Weng L., Chakraverty R., Lombardi G., Watt F.M., Orchard K., Marks D.I., Apperley J., Bornhauser M., Walczak H., Bennett C., Dazzi F. Apoptosis in mesenchymal stromal cells induces in vivo recipient-mediated immunomodulation. *Sci Transl Med.* 2017;9:pii: eaam7828. doi: 10.1126/scitranslmed.aam7828.
12. Assis A.C., Carvalho J.L., Jacoby B.A., Ferreira R.L., Castanheira P., Diniz S.O., Cardoso V.N., Goes A.M., Ferreira A.J. Time-dependent migration of systemically delivered bone marrow mesenchymal stem cells to the infarcted heart. *Cell Transplant.* 2010;19(2):219-30. doi: 10.3727/096368909X479677.
13. Майбородин И.В., Морозов В.В., Аникеев А.А., Фигуренко Н.Ф., Маслов Р.В., Частикин Г.А., Матвеева В.А., Майбородина В.И. Макрофагальный ответ у крыс на введение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в регион хирургической травмы. // *Новости хирургии.* 2017;25(3):233-41. [Maiborodin I.V., Morozov V.V., Anikeev A.A., Figurenko N.F., Maslov R.V., Chastikin G.A., Matveeva V.A., Maiborodina V.I. Macrophage reaction to multipotent mesenchymal stromal cells introduction into surgical trauma site in rats. *Novosti Khirurgii.* 2017;25(3):233-41 (in Russian).]. doi: 10.18484/2305-0047.2017.3.233.
14. Tan X., Gong Y.Z., Wu P., Liao D.F., Zheng X.L. Mesenchymal stem cell-derived microparticles: a promising therapeutic strategy. *Int J Mol Sci.* 2014;15(8):14348-14363. doi: 10.3390/ijms150814348.

15. Wuttisarnwattana P., Gargasha M., van't Hof W., Cooke K.R., Wilson D.L. Automatic stem cell detection in microscopic whole mouse cryo-imaging. *IEEE Trans Med Imaging*. 2016 Mar;35(3):819-29. doi: 10.1109/TMI.2015.2497285.
16. Силачев Д.Н., Кондаков А.К., Знаменский И.А., Курашвили Ю.Б., Аболенская А.В., Антипкин Н.Р., Данилина Т.И., Манских В.Н., Гуляев М.В., Пирогов Ю.А., Плотников Е.Ю., Зоров Д.Б., Сухих Г.Т. Использование технеция-99m для прижизненного наблюдения за трансплантированными мультипотентными стромальными клетками. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2016;(3):188-195. Silachev DN, Kondakov AK, Znamenskii IA, Kurashvili YB, Abolenskaya AV, Antipkin NR, Danilina TI, Mansikh VN, Gulyaev MV, Pirogov YA, Plotnikov EY, Zorov DB, Sukhikh GT. The Use of Technetium-99m for Intravital Tracing of Transplanted Multipotent Stromal Cells. *Bull Exp Biol Med*. 2016;162(1):153-159. doi: 10.1007/s10517-016-3565-1.
17. Cao J., Hou S., Ding H., Liu Z., Song M., Qin X., Wang X., Yu M., Sun Z., Liu J., Sun S., Xiao P., Lv Q., Fan H. In vivo tracking of systemically administered allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells in normal rats through bioluminescence imaging. *Stem Cells Int*. 2016;2016:3970942. doi: 10.1155/2016/3970942.
18. Mitsutake Y., Pyun W.B., Rouy D., Foo C.W.P., Stertzer S.H., Altman P., Ikeno F. Improvement of local cell delivery using helix transendocardial delivery catheter in a porcine heart. *Int Heart J*. 2017;58(3):435-440. doi: 10.1536/ihj.16-179.
19. Devine S.M., Cobbs C., Jennings M., Bartholomew A., Hoffman R. Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates. *Blood*. 2003 Apr 15;101(8):2999-3001.
20. Niyibizi C., Wang S., Mi Z., Robbins P.D. The fate of mesenchymal stem cells transplanted into immunocompetent neonatal mice: implications for skeletal gene therapy via stem cells. *Mol Ther*. 2004;9(6):955-63.
21. Almeida-Porada G., Zanjani E.D. A large animal noninjury model for study of human stem cell plasticity. *Blood Cells Mol Dis*. 2004;32(1):77-81.
22. Tolar J., O'shaughnessy M.J., Panoskaltsis-Mortari A., McElmurry R.T., Bell S., Riddle M., McIvor R.S., Yant S.R., Kay M.A., Krause D., Verfaillie C.M., Blazar B.R. Host factors that impact the biodistribution and persistence of multipotent adult progenitor cells. *Blood*. 2006;107(10):4182-8.
23. Vilalta M., Dégano I.R., Bagó J., Gould D., Santos M., García-Arranz M., Ayats R., Fuster C., Chernajovsky Y., García-Olmo D., Rubio N., Blanco J. Biodistribution, long-term survival, and safety of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells transplanted in nude mice by high sensitivity non-invasive bioluminescence imaging. *Stem Cells Dev*. 2008;17(5):993-1003. doi: 10.1089/scd.2007.0201.
24. François S., Usunier B., Douay L., Benderitter M., Chapel A. Long-term quantitative biodistribution and side effects of human mesenchymal stem cells (hMSCs) engraftment in NOD/SCID mice following irradiation. *Stem Cells Int*. 2014;2014:939275. doi: 10.1155/2014/939275.
25. Wang F., Eid S., Dennis J.E., Cooke K.R., Auletta J.J., Lee Z. Route of delivery influences biodistribution of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells following experimental bone marrow transplantation. *J Stem Cells Regen Med*. 2015;11(2):34-43.
26. Arbab A.S., Thiffault C., Navia B., Victor S.J., Hong K., Zhang L., Jiang Q., Varma N.R., Iskander A., Chopp M. Tracking of In-111-labeled human umbilical tissue-derived cells (hUTC) in a rat model of cerebral ischemia using SPECT imaging. *BMC Med Imaging*. 2012;12:33. doi: 10.1186/1471-2342-12-33.
27. Park B.N., Lim T.S., Yoon J.K., An Y.S. In vivo tracking of intravenously injected mesenchymal stem cells in an Alzheimer's animal model. *Cell Transplant*. 2018;27(8):1203-1209. doi: 10.1177/0963689718788067.
28. Майбородин И.В., Маслов Р.В., Михеева Т.В., Еловский А.А., Фигуренко Н.Ф., Майбородина В.И., Шевела А.И., Анищенко В.В. Возможность ангиогенеза в тканях, отдаленных от места инъекции мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. *Молекулярная медицина*. 2018;16(3):22–6. [Maiborodin I.V., Maslov R.V., Mikheeva T.V., Elovskiy A.A., Figurenko N.F., Maiborodina V.I., Shevela A.I., Anishchenko V.V. The possibility of the angiogenesis in tissues remote from the place of the multipotent mesenchymal stromal cell injection. *Molekulyarnaya meditsina*. 2018;16(3):22–6 (in Russian).]. doi: 10.29296/24999490-2018-03-04

29. Майбородин И.В., Маслов Р.В., Михеева Т.В., Еловский А.А., Фигуренко Н.Ф., Майбородин В.И., Шевела А.И., Анищенко В.В. Макрофагальная адсорбция мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток как доказательство их миграции по сосудам после тканевой инъекции. Молекулярная медицина. 2018;16(4):56–61. [Maiborodin I.V., Maslov R.V., Mikheeva T.V., Elovskiy A.A., Figurenko N.F., Maiborodina V.I., Shevela A.I., Anishchenko V.V. Macrophagal adsorption of multipotent mesenchymal stromal cells and their debris from vascular bed proves the migration of these cellular elements through the vessels after tissue injection. Molekulyarnaya meditsina. 2018;16(4):56–61 (in Russian).]. doi: 10.29296/24999490-2018-04-10.

30. Майбородин И.В., Морозов В.В., Аникеев А.А., Маслов Р.В., Фигуренко Н.Ф., Матвеева В.А., Майбородин В.И. Некоторые особенности местного распределения мультипотентных мезенхимных стромальных клеток после инъекции в интактную мышечную ткань в эксперименте. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2017;(4):241-248. Maiborodin I.V., Morozov V.V., Anikeev A.A., Maslov R.V., Figurenko N.F., Matveeva V.A., Maiborodina V.I. Some Peculiarities of Local Distribution of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells after Their Injection into Intact Muscle Tissue in Experiment. Bull Exp Biol Med. 2018;164(4):554-560. doi:10.1007/s10517-018-4031-z.

31. Майбородин И.В., Маслов Р.В., Михеева Т.В., Хоменюк С.В., Майбородин В.И., Морозов В.В., Рязузов М.Е., Марчуков С.В., Козлова Ю.Н. Распределение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток и их детрита по организму после подкожного введения. Журнал общей биологии. 2020;81(2):96–107. Maiborodin I.V., Maslov R.V., Mikheeva T.V., Khomenyuk S.V., Maiborodina V.I., Morozov V.V., Ryaguzov M.E., Marchukov S.V., Kozlova Ju.N. The distribution of multipotent mesenchymal stromal cells and their detritus throughout the organism after subcutaneous introduction. Zhurnal obshchei biologii. 2020;81(2):96–107. DOI: 10.31857/S0044459620020050.

32. Maiborodin I.V., Maslov R.V., Mikheeva T.V., Marchukov S.V., Maiborodina V.I., Shevela A.A. Opportunity for elimination of injected multipotent stromal cells via lungs. Cellular Therapy and Transplantation (CTT). 2020;9(1):67-73. doi:10.18620/ctt-1866-8836-2020-9-1-67-73.

33. Майбородин И.В., Маслов Р.В., Рязузов М.Е., Майбородин В.И., Лушникова Е.Л. Диссеминация мультипотентных стромальных клеток в организме после их инъекции в интактную и резецированную печень в эксперименте. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2022;(3):135-144. Maiborodin I.V., Maslov R.V., Ryaguzov M.E., Maiborodina V.I., Lushnikova E.L. Dissemination of multipotent stromal cells in the organism after their injection into the intact and reset liver in the experiment. Bull Exp Biol Med. 2022. DOI: 10.47056/1814-3490-2022-3-135-144.

References

1. Zheng Y., Huang J., Zhu T., Li R., Wang Z., Ma F., Zhu J. Stem cell tracking technologies for neurological regenerative medicine purposes. Stem Cells Int. 2017;2017:2934149. doi: 10.1155/2017/2934149.

2. Masterson C.H., Curley G.F., Laffey J.G. Modulating the distribution and fate of exogenously delivered MSCs to enhance therapeutic potential: knowns and unknowns. Intensive Care Med Exp. 2019;7(Suppl 1):41. doi: 10.1186/s40635-019-0235-4.

3. Nakada N., Kuroki Y. Cell tracking of chromium-labeled mesenchymal stem cells using laser ablation inductively coupled plasma imaging mass spectrometry. Rapid Commun Mass Spectrom. 2019;33(20):1565-1570. doi: 10.1002/rcm.8505.

4. Eggenhofer E., Benseler V., Kroemer A., Popp F.C., Geissler E.K., Schlitt H.J., Baan C.C., Dahlke M.H., Hoogduijn M.J. Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. Front Immunol. 2012;3:297. doi: 10.3389/fimmu.2012.00297.

5. Gonçalves F.D.C., Luk F., Korevaar S.S., Bouzid R., Paz A.H., López-Iglesias C., Baan C.C., Merino A., Hoogduijn M.J. Membrane particles generated from mesenchymal stromal cells modulate immune responses by selective targeting of pro-inflammatory monocytes. Sci Rep. 2017;7(1):12100. doi: 10.1038/s41598-017-12121-z.

6. Lei Y., Tang H., Yao L., Yu R., Feng M., Zou B. Applications of mesenchymal stem cells labeled with Tat peptide conjugated quantum dots to cell tracking in mouse body. Bioconjug Chem. 2008 Feb;19(2):421-7.

7. Takasaki Y., Watanabe M., Yukawa H., Sabarudin A., Inagaki K., Kaji N., Okamoto Y., Tokeshi M., Miyamoto Y., Noguchi H., Umemura T., Hayashi S., Baba Y., Haraguchi H. Estimation of the distribution of intravenously injected adipose tissue-derived stem cells labeled with quantum dots in mice organs through the determination of their metallic components by ICPMS. *Anal Chem.* 2011;83(21):8252-8. doi: 10.1021/ac202053y.
8. Violatto M.B., Santangelo C., Capelli C., Frapolli R., Ferrari R., Sitia L., Tortarolo M., Talamini L., Previdi S., Moscatelli D., Salmons M., Intra M., Bendotti C., Bigini P. Longitudinal tracking of triple labeled umbilical cord derived mesenchymal stromal cells in a mouse model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Stem Cell Res.* 2015;15(1):243-53. doi: 10.1016/j.scr.2015.06.010.
9. Detante O., Moisan A., Dimastromatteo J., Richard M.J., Riou L., Grillon E., Barbier E., Desruet M.D., De Fraipont F., Segebarth C., Jaillard A., Hommel M., Ghezzi C., Remy C. Intravenous administration of ^{99m}Tc-HMPAO-labeled human mesenchymal stem cells after stroke: in vivo imaging and biodistribution. *Cell Transplant.* 2009;18(12):1369-79. doi: 10.3727/096368909X474230.
10. Bian S.Y., Cui H., Zhang X.N., Qi L.P., Li D.Y. Mesenchymal stem cells release membrane microparticles in the process of apoptosis. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2012;20(2):453-457.
11. Galleu A., Riffó-Vasquez Y., Trento C., Lomas C., Dolcetti L., Cheung T.S., von Bonin M., Barbieri L., Halai K., Ward S., Weng L., Chakraverty R., Lombardi G., Watt F.M., Orchard K., Marks D.I., Apperley J., Bornhauser M., Walczak H., Bennett C., Dazzi F. Apoptosis in mesenchymal stromal cells induces in vivo recipient-mediated immunomodulation. *Sci Transl Med.* 2017;9:pil:eaam7828. doi: 10.1126/scitranslmed.aam7828.
12. Assis A.C., Carvalho J.L., Jacoby B.A., Ferreira R.L., Castanheira P., Diniz S.O., Cardoso V.N., Goes A.M., Ferreira A.J. Time-dependent migration of systemically delivered bone marrow mesenchymal stem cells to the infarcted heart. *Cell Transplant.* 2010;19(2):219-30. doi: 10.3727/096368909X479677.
13. Majborodin I.V., Morozov V.V., Anikeev A.A., Figurenko N.F., Maslov R.V., Chastikin G.A., Matveeva V.A., Majborodina V.I. Makrofagal'nyj otvet u krysa na vvedenie mul'tipotentnykh mezenhi-mal'nykh stromal'nykh kletok v region hirurgicheskoy travmy. // *Novo-sti hirurgii.* 2017;25(3):233-41. [Majborodin I.V., Morozov V.V., Anikeev A.A., Figurenko N.F., Maslov R.V., Chastikin G.A., Matveeva V.A., Majborodina V.I. Macrophage reaction to multipotent mesenchymal stromal cells introduction into surgical trauma site in rats. *Novosti Khirurgii.* 2017;25(3):233-41 (in Russian).]. doi: 10.18484/2305-0047.2017.3.233.
14. Tan X., Gong Y.Z., Wu P., Liao D.F., Zheng X.L. Mesenchymal stem cell-derived microparticles: a promising therapeutic strategy. *Int J Mol Sci.* 2014;15(8):14348-14363. doi: 10.3390/ijms150814348.
15. Wuttisarnwattana P., Gargesh M., van't Hof W., Cooke K.R., Wilson D.L. Automatic stem cell detection in microscopic whole mouse cryo-imaging. *IEEE Trans Med Imaging.* 2016 Mar;35(3):819-29. doi: 10.1109/TMI.2015.2497285.
16. Silachyov D.N., Kondakov A.K., Znamenskij I.A., Kurashvili YU.B., Abolenskaya A.V., Antipkin N.R., Danilina T.I., Manskih V.N., Gulyaev M.V., Pirogov YU.A., Plotnikov E.YU., Zorov D.B., Suhik G.T. Ispol'zovanie tekhneciya-99m dlya prizhiznennogo nablyudeniya za transplantirovannymi mul'tipotentnymi stromal'nymi kletkami. *Kletoch-nye tekhnologii v biologii i medicine.* 2016;(3):188-195. Silachev DN, Kondakov AK, Znamenskii IA, Kurashvili YB, Abolenskaya AV, Antipkin NR, Danilina TI, Manskih VN, Gulyaev MV, Pirogov YA, Plotnikov EY, Zorov DB, Sukhikh GT. The Use of Technetium-99m for Intravital Tracing of Transplanted Multipotent Stromal Cells. *Bull Exp Biol Med.* 2016;162(1):153-159. doi: 10.1007/s10517-016-3565-1.
17. Cao J., Hou S., Ding H., Liu Z., Song M., Qin X., Wang X., Yu M., Sun Z., Liu J., Sun S., Xiao P., Lv Q., Fan H. In vivo tracking of systemically administered allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells in normal rats through bioluminescence imaging. *Stem Cells Int.* 2016;2016:3970942. doi: 10.1155/2016/3970942.
18. Mitsutake Y., Pyun W.B., Rouy D., Foo C.W.P., Stertzer S.H., Altman P., Ikeno F. Improvement of local cell delivery using helix transcatheter delivery catheter in a porcine heart. *Int Heart J.* 2017;58(3):435-440. doi: 10.1536/ihj.16-179.
19. Devine S.M., Cobbs C., Jennings M., Bartholomew A., Hoffman R. Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates. *Blood.* 2003 Apr 15;101(8):2999-3001.

20. Niyibizi C., Wang S., Mi Z., Robbins P.D. The fate of mesenchymal stem cells transplanted into immunocompetent neonatal mice: implications for skeletal gene therapy via stem cells. *Mol Ther.* 2004;9(6):955-63.
21. Almeida-Porada G., Zanjani E.D. A large animal noninjury model for study of human stem cell plasticity. *Blood Cells Mol Dis.* 2004;32(1):77-81.
22. Tolar J., O'Shaughnessy M.J., Panoskaltsis-Mortari A., McElmurry R.T., Bell S., Riddle M., McIvor R.S., Yant S.R., Kay M.A., Krause D., Verfaillie C.M., Blazar B.R. Host factors that impact the biodistribution and persistence of multipotent adult progenitor cells. *Blood.* 2006;107(10):4182-8.
23. Vilalta M., Dégano I.R., Bagó J., Gould D., Santos M., García-Arranz M., Ayats R., Fuster C., Chernajovsky Y., García-Olmo D., Rubio N., Blanco J. Biodistribution, long-term survival, and safety of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells transplanted in nude mice by high sensitivity non-invasive bioluminescence imaging. *Stem Cells Dev.* 2008;17(5):993-1003. doi: 10.1089/scd.2007.0201.
24. François S., Usunier B., Douay L., Benderitter M., Chapel A. Long-term quantitative biodistribution and side effects of human mesenchymal stem cells (hMSCs) engraftment in NOD/SCID mice following irradiation. *Stem Cells Int.* 2014;2014:939275. doi: 10.1155/2014/939275.
25. Wang F., Eid S., Dennis J.E., Cooke K.R., Auletta J.J., Lee Z. Route of delivery influences biodistribution of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells following experimental bone marrow transplantation. *J Stem Cells Regen Med.* 2015;11(2):34-43.
26. Arbab A.S., Thiffault C., Navia B., Victor S.J., Hong K., Zhang L., Jiang Q., Varma N.R., Iskander A., Chopp M. Tracking of In-111-labeled human umbilical tissue-derived cells (hUTC) in a rat model of cerebral ischemia using SPECT imaging. *BMC Med Imaging.* 2012;12:33. doi: 10.1186/1471-2342-12-33.
27. Park B.N., Lim T.S., Yoon J.K., An Y.S. In vivo tracking of intra-venously injected mesenchymal stem cells in an Alzheimer's animal model. *Cell Transplant.* 2018;27(8):1203-1209. doi: 10.1177/0963689718788067.
28. Majborodin I.V., Maslov R.V., Miheeva T.V., Elovskij A.A., Figurenko N.F., Majborodina V.I., Shevela A.I., Anishchenko V.V. Voz-mozhnost' angiogeneza v tkanyah, otdalennyh ot mesta in'ekcii mul'tipotentnyh mezenhimal'nyh stromal'nyh kletok. *Molekulyarnaya medicina.* 2018;16(3):22-6. [Majborodin I.V., Maslov R.V., Mikheeva T.V., Elovskij A.A., Figurenko N.F., Maiborodina V.I., Shevela A.I., Anishchenko V.V. The possibility of the angiogenesis in tissues remote from the place of the multipotent mesenchymal stromal cell injection. *Molekulyarnaya meditsina.* 2018;16(3):22-6 (in Russian).]. doi: 10.29296/24999490-2018-03-04
29. Majborodin I.V., Maslov R.V., Miheeva T.V., Elovskij A.A., Figurenko N.F., Majborodina V.I., Shevela A.I., Anishchenko V.V. Makrofagal'naya adsorbciya mul'tipotentnyh mezenhimal'nyh stro-mal'nyh kletok kak dokazatel'stvo ih migracii po sosudam posle tka-nevoj in'ekcii. *Molekulyarnaya medicina.* 2018;16(4):56-61. [Maiborodin I.V., Maslov R.V., Mikheeva T.V., Elovskij A.A., Figurenko N.F., Maiborodina V.I., Shevela A.I., Anishchenko V.V. Macrophagal adsorption of multipotent mesenchymal stromal cells and their debris from vascular bed proves the migration of these cellular elements through the vessels after tissue injection. *Molekulyarnaya meditsina.* 2018;16(4):56-61 (in Russian).]. doi: 10.29296/24999490-2018-04-10.
30. Majborodin I.V., Morozov V.V., Anikeev A.A., Maslov R.V., Figurenko N.F., Matveeva V.A., Majborodina V.I. Nekotorye osobennosti mestnogo raspredeleniya mul'tipotentnyh mezenhimnyh stromal'nyh kletok posle in'ekcii v intaktnuyu myshechnuyu tkan' v eksperimente. *Kletochnye tekhnologii v biologii i medicine.* 2017;4(4):241-248. Maiborodin I.V., Morozov V.V., Anikeev A.A., Maslov R.V., Figurenko N.F., Matveeva V.A., Maiborodina V.I. Some Peculiarities of Local Distribution of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells after Their Injection into Intact Muscle Tissue in Experiment. *Bull Exp Biol Med.* 2018;164(4):554-560. doi:10.1007/s10517-018-4031-z.
31. Majborodin I.V., Maslov R.V., Miheeva T.V., Homenyuk S.V., Majborodina V.I., Morozov V.V., Ryaguzov M.E., Marchukov S.V., Kozlova YU.N. Raspredelenie mul'tipotentnyh mezenhimnyh stromal'nyh kletok i ih detrita po organizmu posle podkozhnogo vvedeniya. *Zhurnal obshchej biologii.* 2020;81(2):96-107. Maiborodin I.V., Maslov R.V., Miheeva T.V., Khomenyuk S.V., Maiborodina V.I., Morozov V.V., Ryaguzov M.E., Marchukov S.V., Kozlova Ju.N. The distribution of multipotent mesenchymal stromal cells and their detritus

throughout the organism after sub-cutaneous introduction. Zhurnal obshchei biologii. 2020;81(2):96–107. DOI: 10.31857/S0044459620020050.

32. Maiborodin I.V., Maslov R.V., Mikheeva T.V., Marchukov S.V., Maiborodina V.I., Shevela A.A. Opportunity for elimination of injected mul-tipotent stromal cells via lungs. Cellular Therapy and Transplantation (CTT). 2020;9(1):67-73. doi:10.18620/ctt-1866-8836-2020-9-1-67-73.

33. Majborodin I.V., Maslov R.V., Ryaguzov M.E., Majborodina V.I., Lushnikova E.L. Disseminaciya mul'tipotentnyh stromal'nyh kletok v organizme posle ih in'ekcii v intaktnuyu i rezecirovannuyu pechen' v eksperimente. Kletochnye tekhnologii v biologii i medicine. 2022;(3):135-144. Maiborodin I.V., Maslov R.V., Ryaguzov M.E., Maibo-rodina V.I., Lushnikova E.L. Dissemination of multipotent stromal cells in the organism after their injection into the intact and reset liver in the experi-ment. Bull Exp Biol Med. 2022. DOI: 10.47056/1814-3490-2022-3-135-144.