

УДК 612.41/.419.014.2-085.23
doi:10.22494/cot.v6i2.88

Вплив трансплантації мультипотентних стромальних клітин тимуса на імунну систему і виживаність летально опромінених мишей



Нікольська К. І.

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

e-mail: nikolskaya.kiev@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Традиційним джерелом для регенерації імунної системи є гемопоетичні стовбурові клітини. Значно менше у цьому аспекті вивчені мультипотентні стромальні клітини (МСК), особливо – МСК тимуса.

МЕТА РОБОТИ – встановити вплив трансплантації МСК тимуса на виживаність і регенерацію імунної системи летально опромінених мишей.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Опромінені в дозі 9,0 Гр мишам лінії СВА 5-6-тижневого віку вводили внутрішньовенно $5 \cdot 10^4$ МСК тимуса. На 30-й день визначали клітинність лімфоїдних органів, кісткового мозку і крові, показники природного і адаптивного імунітету.

РЕЗУЛЬТАТИ. Встановлено, що трансплантовані МСК тимуса суттєво подовжували виживаність і середню тривалість життя мишей, відновлювали клітинність кісткового мозку, здатність стромальних клітин кісткового мозку до утворення фібробластних колоній, значно підвищували клітинність тимуса і сприяли нормалізації чисельності лейкоцитів у крові. Також значно підвищувалася природна цитотоксична активність спленоцитів і їх здатність до синтезу α/β - і γ -інтерферонів, суттєво стимулювалося формування антитілоутворюючих клітин і підвищувався синтез антитіл. Суттєво знижувався вміст у крові спонтанного TNF- α .

ВИСНОВКИ. Результати свідчать, що МСК тимуса володіють вираженою регенеративною і імунобіологічною активністю, що надає цим клітинам і радіозахисну здатність. Отримані дані можуть бути використані для розробки комбінованих клітинних трансплантатів і нових методів підвищення їх регенеративного потенціалу та радіозахисної ефективності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мультипотентні стромальні клітини тимуса; трансплантація клітин; регенерація імунної системи; летальне опромінення

Родоначальними для всіх клітин імунної системи, за виключенням стромальних, є гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК), які у фізіологічних умовах є гетерогенною популяцією клітин різного ступеня зрілості, що складають в цілому відомий континуум із ГСК і їх прогеніторів, елементи якого принципово відрізняються за діапазоном мультипотентності і чутливості до гуморальної і міжклітинної контактної регуляції [1]. Трансплантація ГСК і прогеніторів опроміненим тваринам забезпечує відновлення імунної системи і захищає їх від розвитку летального кістковомозкового синдрому. Але іноді результати

виходять не зовсім задовільними і виникає питання, чи не пов'язано це з недостатньою кількістю в клітинних препаратах ГСК і прогеніторів мультипотентних стромальних клітин (МСК), які зазвичай виконують важливу функцію підтримки ГСК у кістковомозкових нішах [2, 3]. Особливо треба відмітити, що в препаратах клітин кісткового мозку можна очікувати присутність деякої кількості кістковомозкових МСК і природно, що в них зовсім не містяться МСК тимуса. Між тим, останні суттєво відрізняються за властивостями від кістковомозкових, кісткових і дермальних субпопуляцій і є, певною мірою, унікальними.

Дослідження клітинних маркерів на моделях трансгенних тварин показали, що мезенхіма навколо капсули тимуса походить із нейрального гребінця [4]. Клітини мезенхімального походження беруть активну участь у формуванні ембріонального і дорослого тимуса [5, 6], а також вони відіграють суттєву роль у позитивній селекції і міграції Т-лімфоцитів [7]. Особливо виражено тимусні МСК стимулюють розвиток подвійно негативних CD4-CD8 клітин [8, 9, 10].

В ембріогенезі МСК тимуса регулюють проліферацію тимусних епітеліальних клітин, продукуючи фактори росту фібробластів (FGF) 7 і 10, інсуліноподібний фактор росту (IGF) 1 і 2, а також ретиноїдну кислоту [9, 11, 12, 13, 14]. У дорослому тимусі CD148⁺ МСК включаються у ревааскуляризацію і регенерацію тимуса після інфекції, продукуючи FSP 1 (fibroblast-specific protein-1), необхідний для підтримки тимусного медулярного епітелію [15, 16].

Значні відмінності між МСК тимуса, кістки і дерми, що висвітлюють важливість функціональної активності тимічних МСК, було виявлено завдяки аналізу транскриптому [17]. У цій роботі підбір клітин для дослідження базувався на припущенні авторів, що властивості МСК можуть залежати від мікрооточення. Так, МСК тимуса і шкіри повинні мати механізми для підтримки епітеліальних клітин, а МСК тимуса і кістки позитивно впливати на гемопоетичні клітини. У всіх трьох популяціях виявлено 6270 генів, які забезпечують життєдіяльність клітин (housekeeping), 2850 базових (core) і 2036 генів, експресія яких сильно, часто 5-кратно, варіювала (differentially expressed genes – DEGs) в трьох популяціях, що вказувало на неоднорідність клітин. DEGs були пов'язані з характерними функціями: видалення апоптотичних клітин (тимусні МСК), остеокластогенез (кісткові МСК) і підтримка волосяного фолікула (МСК дерми). Більш висока експресія DEGs в МСК тимуса забезпечує регулювання хемотаксису і поляризацію M2 макрофагів, які сприяють антизапальним процесам. Три DEGs беруть участь у реалізації процесів атракції і експансії гемопоетичних клітин-попередників тимоцитів. Вони експресувалися на найбільш високому рівні в МСК тимуса. DEGs і тимуса, і кістки експресували у збільшеній кількості також 5 генів, які сприяли експансії гемопоетичних клітин-попередників та були слабо виражені в МСК дерми або тимоцитах. А із 25 основних DEGs, які експресувалися в МСК тимуса і дерми, 7 кодували молекули, що брали участь у адгезії епітеліальних клітин до базальної мембрани і сигналізації у процесі мезенхімально-епітеліального переходу. Розглянуті дані свідчать про гетерогенність МСК різного тканинного походження. Головними функціями тимусних МСК є сприяння ефероцитозу, підтримка гемопоетичних клітин-попередників і епітеліальних клітин [17].

Отримані дані свідчать про можливий активний вплив МСК тимуса на регенерацію тимуса і Т-клітинної ланки імунітету, що було показано у наших попередніх дослідженнях [18].

Мета роботи: встановити вплив трансплантації МСК тимуса на виживаність та регенерацію імунної системи летально опромінених мишей.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Робота виконана на 113 самцях мишей лінії CBA 5-6 тижневого віку з дотриманням вимог статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 р.) та «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986 р.). Тварин опромінювали одноразово за допомогою установки «Тера-Трон» з радіонуклідним джерелом ⁶⁰Co. Доза опромінення становила 9,0 Гр, потужність дози – 151 сГр/хв.

Культуру клітин МСК тимуса отримували методом експлантів, культивуючи шматочки органу у поживному середовищі DMEM/F12 з 10 % ембріональної телячої сироватки (все – *Sigma*, США) в 6-лункових планшетах при 5 % CO₂. На 10-ту добу культивування, коли утворювалися добре помітні численні фібробластні колонії, видалляли середовище, переводили клітини колоній МСК тимуса в суспензію за допомогою розчину трипсин-ЕДТА. Мультипотентні властивості МСК тимуса підтверджені їх остео- і адипогенним диференціюванням в спеціальних середовищах у попередніх наших дослідженнях [19].

Проведено два експерименти. В першому експерименті для вивчення виживаності і середньої тривалості життя після опромінення мишам трансплантували внутрішньовенно в ретроорбітальний синус 5·10⁴ МСК тимуса в 0,2 мл середовища DMEM/F12 (n = 16). В контролі – опромінені миші, що отримували культуральне середовище (n = 14). Спостереження за тваринами здійснювали протягом 16 тижнів, відмічаючи дату загибелі кожної миші.

В другому експерименті (рис. 1) для дослідження функцій імунної системи сформовані такі групи: 1 – нормальні миші (n = 11); 2 – летально опромінені миші, що отримували культуральне середовище (n = 32); 3 – летально опромінені миші, що отримували МСК тимуса (n = 40). За тваринами спостерігали протягом 30 днів, фіксуючи дату загибелі кожної миші. На 25-й день імунізували всіх тварин внутрішньочеревинним введенням 10⁸ еритроцитів барана. Через 4 дні проводили повторну імунізацію для розвитку реакції гіперчутливості сповільненого типу шляхом введення такої ж кількості еритроцитів в подушечку задньої лапи. Ще через добу (30-й день після опромінення) оцінювали виживаність тварин і після декапітації під ефірним рауш-наркозом визначали показники імунної системи. У тварин, що вижили, на 30-й день (2-а група – 5 мишей, 3-я група – 8 мишей) визначали абсолютну і відносну масу тимуса і селезінки, кількість тимоцитів, спленоцитів і клітин кісткового мозку, кількість фібробластних колонієутворюючих одиниць (KVO-Ф) в кістковому мозку [20], кількість лейкоцитів у периферичній крові, підраховували лейкоцитарну формулу. Поглинання перитонеальними макрофагами *S. aureus*, мічених FITC, досліджували методом проточної цитофлуориметрії [21], бактерицидну активність перитонеальних макрофагів – за індексом стимуляції в НСТ-тесті [22], природну цитотоксичність спленоцитів до клітин-мішеней K562 і реакцію бласттрансформації



Рис. 1. Схема експерименту з вивчення впливу трансплантації мезенхімальних стромальних клітин тимуса на імунну систему і виживаність летально опромінених мишей

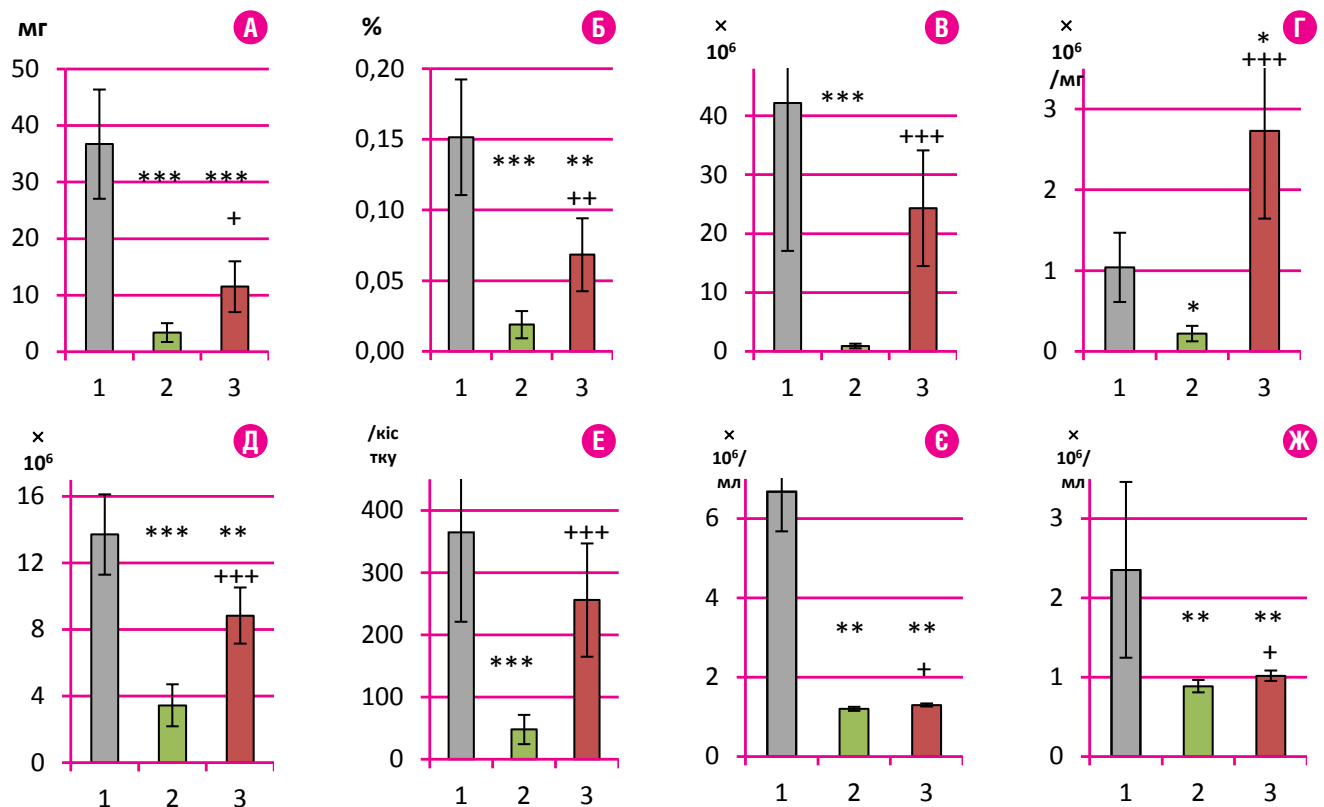
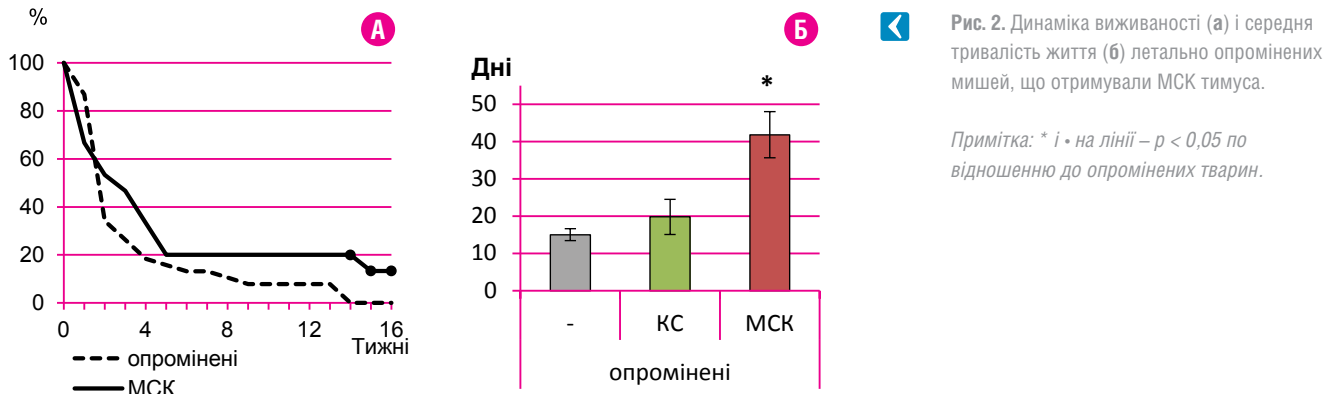


Рис. 3. Маса (а) і відносна маса тимуса (б), кількість тимоцитів (в), клітинність тимуса (г), кількість клітин кісткового мозку (д) і KVO-Ф (е), кількість лейкоцитів (є) і нейтрофілів (ж) в периферичній крові.
 1 – нормальні тварини (n = 11), 2 – опромінені тварини, що отримували культуральне середовище (n = 5), 3 – опромінені тварини, що отримували МСК (n = 8). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з групою нормальних мишей; + – $p < 0,05$, ++ – $p < 0,01$, +++ – $p < 0,001$ порівняно з групою опромієних мишей, що отримували культуральне середовище.

лімфоцитів брижових лімфовузлів – МТТ-методом [23]. Вміст α/β - і γ -інтерферонів (\log_2 титру), індукованих в культурі спленоцитів вірусом хвороби Ньюкасла і 10 мкг/мл конканаваліна А (Sigma, США) досліджували, оцінюючи здатність супернатантів культур спленоцитів запобігати розвитку цитопатогенної дії вірусу везикулярного стоматиту в культурі клітин [24]. Вміст фактора некрозу пухлин α (TNF α) визначали по цитотоксичній дії супернатантів культур спленоцитів на чутливі до TNF α клітини L929 та виражали в \log_2 титру [25]. Визначали реакцію гіперчутливості сповільненого типу, кількість антиліоутворюючих клітин (АУК) в селезінці методом локального гемолізу в гелі і рівень гемоглітинінів та гемолізівів в сироватці крові (\log_2 титру).

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики за допомогою програми MS Office Excel (Microsoft, США). Середню тривалість життя опромієних тварин визначали за даними динаміки

загибелі тварин методом лінійної регресії за допомогою програми Origin v.6.1. Результати представлені у вигляді середніх арифметичних і помилок середніх ($M \pm m$). Достовірність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента, точного критерію Фішера і непараметричного критерію Мана-Уїтні. При інтерпретації результатів критичною величиною рівня значущості вважали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Заслугує на увагу те, що трансплантація сингенних МСК сприяла підвищенню показників виживаності, хоча і на рівні тенденції, майже у всі терміни спостереження (рис. 2), з 14-го тижня – достовірно.

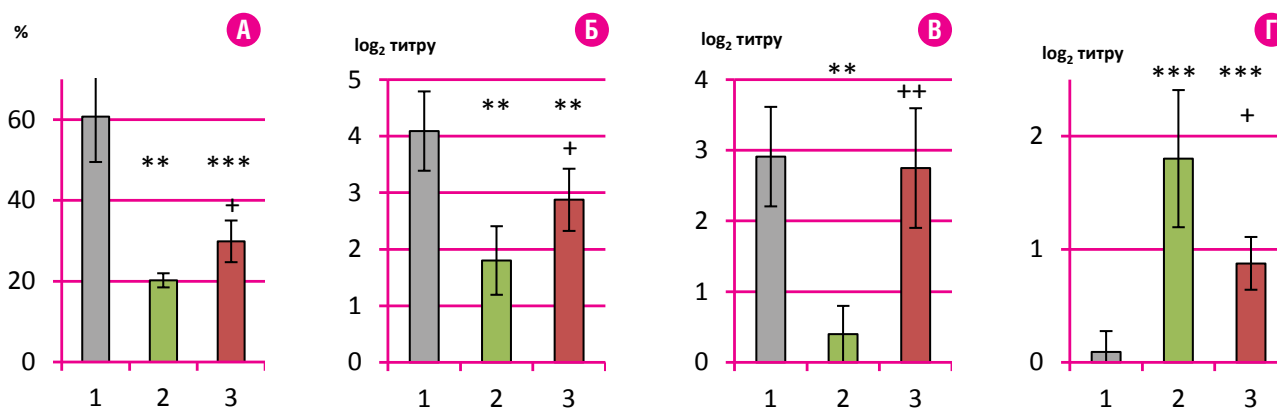


Рис. 4. Цитотоксична активність спленоцитів (а), кількість α/β (б) та γ (в) інтерферону, кількість спонтанного TNF α (г) в культурі спленоцитів. 1 – нормальні тварини (n = 11), 2 – опромінені тварини, що отримували культуральне середовище (n = 5), 3 – опромінені тварини, що отримували МСК (n = 8). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з групою нормальних мишей; +- $p < 0,05$, ++ – $p < 0,01$, +++ – $p < 0,001$ порівняно з групою опроміненних мишей, що отримували культуральне середовище.

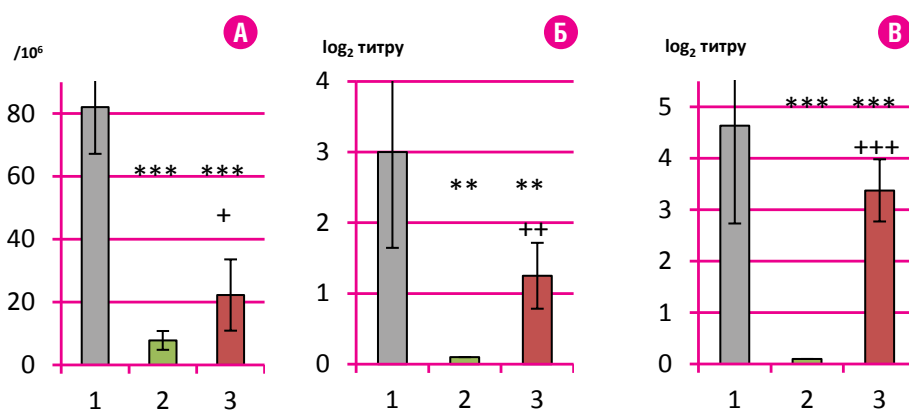


Рис. 5. Кількість АУК на 10^6 спленоцитів (а), вміст гемаглютининів (б) та гемолізінів (в) в сироватці крові. 1 – нормальні тварини (n = 9), 2 – опромінені тварини, що отримували культуральне середовище (n = 5), 3 – опромінені тварини, що отримували МСК (n = 11). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з групою нормальних мишей; +- $p < 0,05$, ++ – $p < 0,01$, +++ – $p < 0,001$ порівняно з групою опроміненних мишей, що отримували культуральне середовище.

В цей час загинули всі тварини в контрольній групі опроміненних тварин, а в групі мишей, що отримували МСК, залишилось живими 13 % тварин. Середня тривалість життя після опромінення в результаті введення МСК була $41,8 \pm 6,2$ днів і значно перевищувала тривалість життя тварин у контрольній групі ($15,0 \pm 1,6$ днів, $p < 0,05$). Це дещо несподіваний результат, тому що МСК не диференціюються в гемопоетичні клітини, а стали уявлення про лікування радіаційного кістково-мозкового синдрому полягають в необхідності трансплантації ГСК і прогеніторів, з яких можуть розвинути клітини імунної системи.

У другому експерименті 30-денна виживаність мишей, що отримували МСК тимуса була на рівні 20,0 %, дещо більша, ніж у опроміненних контрольних мишей (15,6 %), але статистично недостовірна ($p > 0,05$), як і у першому експерименті у цей термін.

Клітинні показники тимуса в результаті опромінення значно зменшувалися. Після введення МСК тимуса його маса суттєво зростала (рис. 3 А, Б), значно підвищувалася і клітинність тимуса (рис. 3 В, Г).

Суттєво відновлювалася клітинність кісткового мозку (рис. 3 Д) і кількість КУО-Ф на стегнову кістку (рис. 3 Е). Достовірно збільшувалася кількість лейкоцитів (рис. 3 Є) і нейтрофілів (рис. 3 Ж) у периферичній крові.

Значно зростала цитотоксичність спленоцитів (рис. 4 А) і їх здатність продукувати α/β (рис. 4 Б) та γ -інтерферони (рис. 4 В), які відіграють важливу роль у протиінфекційному захисті та активації імунної системи. Кількість спонтанного TNF α у культуральному середовищі культури спленоцитів суттєво знижувалася після введення МСК (рис. 4 Г), що може свідчити про зниження кількості інфекційних TNF-індукуючих факторів, що надходять через уражений кишковий бар'єр, тим більше, що протирадіаційну активність TNF демонструє тільки при використанні в ранні строки після опромінення [26].

Здатність спленоцитів до формування АУК значно підсилювалася (рис. 5 А). Також в сироватці крові значно зростає вміст гемаглютининів (рис. 5 Б) і гемолізінів (рис. 5 В).

В інших проведених і зазначених у роботі тестах: визначення абсолютної і відносної маси селезінки, кількості спленоцитів, поглинальної і бактерицидної активності перитонеальних макрофагів, реакції бласттрансформації лімфоцитів брижових лімфовузлів, реакції гіперчутливості сповільненого типу трансплантація МСК змін не викликала.

Таким чином, в результаті виконаних досліджень встановлено, що трансплантація МСК тимуса летально опроміненним мишам стимулює регенерацію імунної системи і радіозахисну активність.

Всупереч сталим уявленням про основний механізм дії МСК *in vitro* як антипроліферативний [27] при трансплантації МСК тимуса мишам, які отримували циклофосфамід, спостерігалася регенерація імунної системи з суттєвим відновленням клітинності кісткового мозку і тимуса і переходом великої кількості клітин лімфоїдних вузлів із фази клітинного циклу G₀/G₁ у фазу S+G₂/M, що показано в нашій попередній роботі [28].

У опроміненних мишей під впливом трансплантованих МСК тимуса протягом першого після введення клітин місяця також значною мірою регенерує тимус і кістковий мозок із суттєвим відновленням в останньому здатності МСК до утворення фібробластних колоній. А завдяки регенерації мієлоїдного паростку кісткового мозку у крові суттєво збільшується вміст лейкоцитів і нейтрофілів. Є дані, що трансплантовані МСК здатні мігрувати у кістковий мозок завдяки суперекспресії CXCR4 [29]. До того ж МСК можуть пригнічувати проапоптотичні процеси за рахунок позитивної регуляції антиапоптотичних протеїнів Bcl2 і p-Akt та зниження експресії проапоптотичного протеїну Bax [30].

Контактна взаємодія МСК з різними клітинами суттєво підтримує їх паракринну дію [31, 32].

Підтримка мезенхімальними стромальними клітинами ГСК і прогеніторів відіграє велику роль у функціонуванні ГСК. МСК є головним клітинним компонентом кістково-мозкових ніш ГСК [2, 3]. Важливу роль МСК відіграють і в тимусних нішах, де беруть участь у диференціюванні тимоцитів [8, 9, 33, 34, 35]. Відома спорідненість МСК до незрілих Т-клітин [7, 36]. Показано, що МСК продукують екзосоми і екстрацелюлярні міковезикули, що ефективно підтримують уражені опроміненням ГСК [37]. Можна припустити, що введені МСК певною мірою заміщають uszkodжені опроміненням стромальні клітини реципієнта і створюють більш адекватне мікрооточення для зберігання, виходу у проліферацію та диференціювання ГСК і прогеніторів. Частіше ендogenous МСК є чутливими до опромінення і втрачають свої функціональні можливості незалежно від тканинного походження. Тому має право на існування варіант, коли введені нормальні МСК підсилюють функціонування уражених МСК реципієнта і сприяють належному функціонуванню ніш для ГСК, які вижили [38, 38, 40]. Радіозахисна дія МСК частково може бути пояснена тим, що за деяких умов *in vitro* МСК тимуса, але не кісткового мозку, стимулюють

продукцію антитіл [41]. В умовах *in vivo* МСК теж можуть активувати синтез антитіл [28, 42].

Ще одна реальна можливість полягає у виявленій недавно здатності МСК до участі у реакціях уродженого імунітету завдяки експресії Toll-рецепторів, що може бути механізмом нейтралізації інфекції і пригнічувати тим самим розвиток кістково-мозкового синдрому. МСК також здійснюють протимікробний захист, продукуючи антимікробні пептиди і білки, а також екстраклітинні везикули [43, 44, 45]. Є дані, що МСК і мієлоїдні клітини функціонально кооперуються, підсилюючи активність клітин природного імунітету у протиінфекційному захисті [46]. Введення МСК пуповинної крові людини опроміненним щурам значною мірою сприяло регенерації кісткового мозку [47] і імунної системи в цілому [48]. І четверте, показана наявність у МСК метаболічної і адаптогенної активності, яка сприяє постстресовій регенерації імунної системи [49].

Таким чином, є підстави вважати, що імунорегенеративна і радіозахисна активність трансплантованих МСК може, у певній мірі, реалізуватись безпосередньо ними самими, або ж завдяки їх позитивному диференціальному і проліферативному впливу на ГСК і прогенітори.

ВИСНОВКИ

Таким чином, в результаті трансплантації МСК тимуса летально опроміненим мишам відбувалося подовження виживаності і середньої тривалості життя, стимуляція регенерації тимуса і кісткового мозку з відновленням здатності клітин кісткового мозку до утворення КУО-Ф. Стимулювався природний імунітет: значно зростала цитотоксичність спленоцитів, їх здатність продукувати α/β - і γ -інтерферони і зменшувалася продукція TNF α . У опроміненних мишей після трансплантації МСК тимуса значно підвищувалася кількість антиілоутворюючих клітин в селезінці та посилювався синтез гемолізину і гемоглоїтинів.

Отримані дані свідчать про ефективну участь трансплантованих МСК тимуса у регенерації імунної системи летально опроміненних мишей, що призводить і до підвищення радіозахисних властивостей організму в цілому. Одержані результати можуть бути використані для створення нових комбінованих клітинних трансплантатів і розробки більш ефективних методів їх застосування.

СПИСОК ЦИТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Чертков И. Л., Гуревич О. А. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. Москва: Медицина, 1984. 240 с.
2. Никольская Е. И. Клеточная композиция костномозговых ниш гемопоэтических стволовых клеток (обзор литературы). Журнал Національної Академії медичних наук України. 2015. **21**, № 3-4. С. 272-286.
3. Никольская Е. И., Бутенко Г. М. Структурно-функциональная организация костномозговых ниш гемопоэтических стволовых клеток. Клітинна та органна трансплантологія. 2016. **4**, № 1. С. 82-100.
4. Yamauchi Y., Abe K., Mantani A., et al. A novel transgenic technique that allows specific marking of the neural crest cell lineage in mice. Dev. Biol. 1999. **212**, № 1. P. 191-203.
5. Conway S. J., Henderson D. J., Copp A. J. Pax 3 is required for cardiac neural crest migration in the mouse: evidence from the splotch (Sp2H) mutant. Development. 1997. **124**, № 2. P. 505-514.
6. Takihara Y., Tomotsune D., Shirai M., et al. Targeted disruption of the mouse homologue of the Drosophila polyhomeotic gene leads to altered anteroposterior patterning and neural crest defects. Development. 1997. **124**, № 19. P. 3673-3682.
7. Suniara R. K., Jenkinson E. J., Owen J. J. An essential role for thymic mesenchyme in early T cell development. J Exp Med. 2000. **191**, № 6. P. 1051-1056.
8. Itoi M., Tsukamoto N., Yoshida H., Amagai T. Mesenchymal cells are required for functional development of thymic epithelial cells. Int Immunol. 2007. **19**, № 8. P. 953-964.
9. Jenkinson W. E., Rossi S. W., Parnell S. M., et al. PDGFR α -expressing mesenchyme regulates thymus growth and the availability of intrathymic niches. Blood. 2007. **109**, № 3. P. 954-960.
10. Azghadi S. M., Suci M., Gruia A. T., et al. Mesenchymal stromal cells support the viability and differentiation of thymocytes through direct contact in autologous co-cultures. Histochem Cell Biol. 2016. **146**, № 2. P. 153-165.
11. Jenkinson W. E., Jenkinson E. J., Anderson G. Differential requirement for mesenchyme in the proliferation and maturation of thymic epithelial progenitors. J. Exp. Med. 2003. **198**, № 2. P. 325-332.
12. Rossi S. W., Jeker L. T., Ueno T., et al. Keratinocyte growth factor (KGF) enhances postnatal T-cell development via enhancements in proliferation and function of thymic epithelial cells. Blood. 2007. **109**, № 9. P. 3803-3811.
13. Chu Y.-W., Schmitz S., Choudhury B., et al. Exogenous insulin-like growth factor 1 enhances thymopoiesis predominantly through thymic epithelial cell expansion. Blood. 2008. **112**, № 7. P. 2836-2846.
14. Sitnik K. M., Kotarsky K., White A. J., et al. Mesenchymal cells regulate retinoic acid receptor-dependent cortical thymic epithelial cell homeostasis. J. Immunol. 2012. **188**, № 10. P. 4801-4809.
15. Lax S., Ross E.A., White A., et al. CD248 expression on mesenchymal stromal cells is required for post-natal and infection-dependent thymus remodelling and regeneration. FEBS Open Bio. 2012. **2**. P. 187-190.

16. Sun L., Sun C., Liang Z., et al. FSP1(+) fibroblast subpopulation is essential for the maintenance and regeneration of medullary thymic epithelial cells. *Sci. Rep.* 2015. **5**. P. 14871.
17. Patenaude J., Perreault C. Thymic Mesenchymal Cells Have a Distinct Transcriptomic Profile. *J Immunol.* 2016. **196**, № 11. P. 4760-4770.
18. Никольский И. С., Никольская В. В., Тарануха Л. И., и др. Радиозащитное действие мультипотентных стромальных клеток тимуса. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2009. **24**, № 2/1. С. 284-285.
19. Никольський І. С., Никольська В. В., Демченко Д. Л., Зубов Д. О. Потенціювання направленою диференціювання мультипотентних стромальних клітин тимуса попереднім кокультуванням з тимоцитами. Клітинна та органна трансплантологія. 2016. **4**, № 2. С. 216-223.
20. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток: практическое руководство. Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2010. 691 с.
21. Хайтов Р. М., Пинегин Б. В., Ярилин А. А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2002. 352 с.
22. Coligan J. E., Kruisbeek A. M., Margulies D. H., et al. Current protocols in immunology. N.Y.: John Wiley and Sons, 2003. P. 4.1.1-4.1.5.
23. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assay. *Methods.* 1983. **65**, № 1-2. P. 55-63.
24. Stewart W. E. Interferon systems. Vienna/New York: Springer, 1979. 421 p.
25. Huang M., Yao P. W., Chang M. D., et al. Identification of anti-inflammatory fractions of *Geranium wilfordii* using tumor necrosis factor-alpha as a drug target on Herbochip® - an array-based high throughput screening platform. *BMC Complement Altern Med.* 2015. **15**. P. 146.
26. Чумак А. А., Холодна Л. С. Радіаційна імунологія. Київ: Київ. ун-т, 2001. 89 с.
27. Bifari F., Lisi V., Mimiola E., et al. Immune Modulation by Mesenchymal Stem Cells. *Transfus Med Hemother.* 2008. **35**, № 3. P. 194-204.
28. Никольський І. С., Никольська В. В., Демченко Д. Л., и др. Вплив трансплантації мультипотентних стромальних клітин тимуса на імунну систему мишей в умовах її регенерації. Фізіологічний журнал. 2018. **64**, № 4. С. 3-11.
29. Wynn R. F., Hart C. A., Corradi-Perini C., et al. A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow. *Blood.* 2004. **104**, № 9. P. 2643-2645.
30. Li T. S., Shi H., Wang L., Yan C. Effect of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells on Satellite Cell Proliferation and Apoptosis in Immobilization-Induced Muscle Atrophy in Rats. *Med Sci Monit.* 2016. **22**. P. 4651-4660.
31. Li H., Jiang Y., Jiang X., Guo X., Ning H., Li Y., et al. CCR7 guides migration of mesenchymal stem cell to secondary lymphoid organs: a novel approach to separate GvHD from GvL effect. *Stem Cells.* 2014. **32**, № 7. P. 1890-1903.
32. Li C., Fu Y., Wang Y., et al. Mesenchymal stromal cells ameliorate acute allergic rhinitis in rats. *Cell Biochem Funct.* 2017. **35**, № 7. P. 420-425.
33. Dejbakhsh-Jones S., Jerabek L., Weissman I.L., Strober S. Extrathymic maturation of alpha beta T cells from hemopoietic stem cells. *J Immunol.* 1995. **155**, № 7. P. 3338-3344.
34. Barda-Saad M., Rozenszajn L.A., Globerson A., et al. Selective adhesion of immature thymocytes to bone marrow stromal cells: relevance to T cell lymphopoiesis. *Exp Hematol.* 1996. **24**, № 2. P. 386-391.
35. Maria O. M., Shalaby M., Syme A., et al. Adipose mesenchymal stromal cells minimize and repair radiation-induced oral mucositis. *Cytotherapy.* 2016. **18**, № 9. P. 1129-1145.
36. Li Y., Hisha H., Inaba M., et al. Evidence for migration of donor bone marrow stromal cells into recipient thymus after bone marrow transplantation plus bone grafts: a role of stromal cells in positive selection. *Exp Hematol.* 2000. **28**, № 8. P. 950-960.
37. Wen S., Dooner M., Cheng Y., et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles rescue radiation damage to murine marrow hematopoietic cells. *Leukemia.* 2016. **30**, № 11. P. 2221-2231.
38. Wang Y., Zhu G., Wang J., Chen J. Irradiation alters the differentiation potential of bone marrow mesenchymal stem cells. *Mol Med Rep.* 2016. **13**, № 1. P. 213-223.
39. Kawase T., Okuda K., Nagata M., et al. Non-invasive, quantitative assessment of the morphology of γ -irradiated human mesenchymal stem cells and periosteal cells using digital holographic microscopy. *Int J Radiat Biol.* 2016. **92**, № 12. P. 796-805.
40. Rühle A., Xia O., Perez R.L., et al. The Radiation Resistance of Human Multipotent Mesenchymal Stromal Cells Is Independent of Their Tissue of Origin. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2018. **100**, № 5. P. 1259-1269.
41. Фриденштейн А. Я., Лурия Е. А. Клеточные основы кроветворного микроокружения. Москва: Медицина, 1980. 216 с.
42. Никольский И. С., Никольская В. В., Савинова В. О. Влияние внутривенного введения мультипотентных стромальных клеток тимуса на иммунный ответ. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012. № 4. С. 55-56.
43. Alcaayaga-Miranda F., Cuenca J., Khoury M. Antimicrobial Activity of Mesenchymal Stem Cells: Current Status and New Perspectives of Antimicrobial Peptide-Based Therapies. *Front Immunol.* 2017. **8**. P. 339.
44. Keane C., Jerkic M., Laffey J.G. Stem Cell-based Therapies for Sepsis. *Anesthesiology.* 2017. **127**, № 6. P. 1017-1034.
45. Pachler K., Ketterl N., Desgeorges A., et al. An *In Vitro* Potency Assay for Monitoring the Immunomodulatory Potential of Stromal Cell-Derived Extracellular Vesicles. *Int J Mol Sci.* 2017. **18**, № 7. pii: E1413.
46. Cheung T. S., Dazzi F. Mesenchymal-myeoloid interaction in the regulation of immunity. *Semin Immunol.* 2018. **35**. P. 59-68.
47. Mousa H. S.E., Shalaby S. M., Gouda Z. A., et al. Efficacy of human umbilical cord derived-mesenchymal stem cells in treatment of rat bone marrow exposed to gamma irradiation. *Ann Anat.* 2017. **210**. P. 64-75.
48. Shim S., Lee S. B., Lee J. G., et al. Mitigating effects of hUCB-MSCs on the hematopoietic syndrome resulting from total body irradiation. *Exp Hematol.* 2013. **41**, № 4. P. 346-353.
49. Никольский И. С., Семенова М. А., Никольская В. В., и др. Сравнительная характеристика влияния мультипотентных стромальных клеток костного мозга на развитие острого и пролонгированного стресса. Сборник материалов I Евразийского конгресса «Трансплантация стволовых клеток». Минск, 2013. С. 111-113.



СТАТТЯ НА САЙТІ
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автор підтверджує відсутність можливих конфліктів інтересів.

Надійшла до редакції 26.09.2018 р.

Прийнята до друку 30.11.2018 р.