

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ

Оценка качества и безопасности применения криоконсервированных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток плаценты в клинической практике

Т.А. Астрелина¹, А.Е. Гомзяков¹, И.В. Кобзева¹, Е.Э. Карпова¹, Я.А. Круглова¹,
Е.В. Скоробогатова², Д.Н. Балашов³, О.В. Князев⁴, М.В. Яковлева¹

¹ Банк стволовых клеток департамента здравоохранения г. Москвы, Москва

² Российская детская клиническая больница, Москва

³ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва

⁴ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии, Москва

Evaluation of the quality and safety of cryopreserved human multipotent mesenchymal stromal cells derived from placenta for the clinical use

T.A. Astrelina¹, A.E. Gomyakov¹, I.V. Kobzeva¹, E.E. Karpova¹, A.Y. Kruglova¹, E.V. Skorobogatova²,
D.N. Balashov³, O.V. Knyazev⁴, M.V. Yakovleva¹

¹ Stem Cell Bank of the Moscow Department of Health, Moscow

² D. Rogachev Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

³ Central Research Institute of Gastroenterology, Moscow

Применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в последние годы все более широко исследуется в клинике. ММСК обладают рядом уникальных особенностей: способность поддерживать гемопоэз, облегчая приживление гемопоэтических стволовых клеток (ГСК); иммуномодулирующее действие, в том числе в отношении реакции «трансплантат против хозяина»; способность к дифференцировке в различные типы клеток, что обуславливает участие в процессах репарации тканей и органов. Применение ММСК не требует контроля антигенной совместимости, что предопределяет большую потенциальную доступность для клеточной терапии. Наиболее активно применение ММСК исследуется при терапии гематологических, иммунологических, аутоиммунных, наследственных и других заболеваний.

Целью работы явилась оценка качества и безопасности криоконсервированных ММСК плаценты, подготовленных для клинического применения. ММСК получали из 90 образцов плаценты согласно зарегистрированной медицинской технологии ФС № 2010/374 от 13.10.2010.

Качество полученных ММСК плаценты оценивали посредством бактериологического и вирусологического контроля; определяли жизнеспособность клеток с помощью окраски трипановым синим и 7AAD; методом проточной цитофлюориметрии подтверждали иммунофенотип, характерный для клеток мезенхимального происхождения. Биологическую безопасность ММСК плаценты оценивали методом кариотипирования метафазных хромосом (15–20 метафаз).

Были заготовлены 72 образца ММСК плаценты (193 дозы) и использованы при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток 22 пациентам (42 дозы ММСК плаценты) с целью оптимизации приживления ГСК, профилактики, терапии или контроля реакции «трансплантат

The application of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) in recent years is more widely evaluated in clinical trials. MMSC possess a number of unique features: the ability to support hematopoiesis, facilitating engraftment of HSC; immunomodulatory effects, including in regard to «graft versus host» reaction, and ability to differentiate into various cells types, that is defined their involvement in tissue and organ repair processes. The use of MMSC does not require antigenic compatibility control that leads to high potential accessibility of cell therapy. The most actively MMSC are evaluated in therapy of hematological, immunological, autoimmune, hereditary and other diseases.

The aim of the study was to assess the quality and safety of cryopreserved placenta-derived MMSC prepared for clinical application. MMSC were obtained from 90 samples of placenta according to registered medical technology ФС №2010/374 от 13.10.2010. We evaluated the quality of placental MMSC by bacterial and viral control; determined the viability of cells with trypan blue and 7AAD; confirmed the immunophenotype specific for MMSC by flow cytometry. The biological safety of MMSC was analyzed by G-banding technique (15–20 metaphase chromosomes).

72 samples of placenta-derived MMSC (193 doses) were prepared and used with HSC transplantation to 22 patients (42 MMSC doses) for optimization of HSC engraftment, prevention, control and treatment of «graft versus host» disease, liver regeneration. MMSC transfusion was performed at a dose of 2mln/kg. The results showed that allogeneic placenta-derived MMSC harvested in compliance with strict quality control were safe for clinical use and offered several significant advantages: no special

e-mail: t_astrelina@mail.ru

против хозяина», обеспечения регенерации печени. Трансфузия ММСК плаценты проводилась в дозе 2 млн/кг. Было показано, что аллогенные ММСК плаценты, заготовленные строго с соблюдением контроля качества, безопасны для клинического применения, а также обладают рядом существенных преимуществ: отсутствие необходимости выполнять специальное инвазивное вмешательство для эксплантации их тканевого источника (плаценты), высокий индекс пролиферации на 4 пассаже культивирования, позволяющий получить необходимое количество клеток для достижения максимального терапевтического эффекта.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, плацента, клиническое применение, безопасность, качество.

В настоящее время применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) является одним из активно развивающихся направлений, показанных в лечении заболеваний с аутоиммунным компонентом, в регенеративной и восстановительной медицине.

ММСК обладают рядом уникальных особенностей, которые обуславливают их эффективность в клиническом применении: способность поддерживать гемопоэз, облегчая приживление гемопоэтических стволовых клеток (ГСК); иммуномодулирующее действие, в том числе в отношении профилактики и купирования острой и хронической реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ); способность дифференцироваться в различные типы мезенхимальных клеток, а также обеспечивать репаративную регенерацию тканей и органов и др.

ММСК обладают способностью положительно влиять на восстановительный потенциал различных тканей за счёт высокого пролиферативного потенциала и способности к дифференцировке в definitive клетки мезенхимальных линий (остеогенное, хондрогенное, адипогенное, фибробластическое и др. направления), а также обеспечивать микроокружение ГСК [1].

По современным представлениям количество ММСК, вводимых пациенту для оказания оптимального иммуномодулирующего эффекта, должно быть не менее 1–2 млн/кг [2, 3]. Необходимое количество клеток должно быть получено на ранних пассажах, когда ММСК обладают высокой пролиферативной активностью, которая снижается при дальнейшем культивировании. Перспективным материалом для выделения и последующего культивирования ММСК является плацента, так как отсутствует какое-либо инвазивное вмешательство при ее получении. ММСК плаценты характеризуются большим пролиферативным потенциалом и отсутствием экспрессии антигенов МНС II класса [4, 5]. Применение ММСК с целью иммуномодулирующей терапии не требует подбора доноров на антигенную совместимость с реципиентом, что позволяет использовать аллогенные ММСК.

В последнее время наиболее активно исследуется использование ММСК при терапии гематологических, иммунологических, наследственных и других заболеваний в качестве ко-трансплантата с ГСК, а также в лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы и опорно-двигательного аппарата. Применение ММСК преследует две основные цели – облегчить приживление ГСК и предупредить развитие острой и хронической РТПХ [3, 6].

invasive procedure for their tissue source explantation, high proliferative index on the 4th passage of cultivation, which allowed getting the required amount of cells for maximal therapeutic effect.

Key words: multipotent mesenchymal stromal cells, placenta, clinical application, safety, quality.

Известно, что аллогенные ММСК не обладают иммуностимулирующими свойствами *in vitro*: они не индуцируют пролиферацию лимфоцитов и не являются мишенями для действия NK-клеток, кроме того, *in vitro* исследования показали иммуносупрессивные свойства ММСК в отношении цитотоксических Т-лимфоцитов, что делает их весьма привлекательным объектом с точки зрения иммунокорректирующей терапии аутоиммунных реакций и РТПХ [3, 7–10]. Проведённые исследования продемонстрировали, что применение ММСК обеспечивает поддержку полного приживления ГСК, а медиана выживаемости пациентов с трансплантированными ММСК намного выше, чем в контрольной группе, без применения ММСК [3, 11–13]. Существует много разных мнений по применению ММСК совместно с ГСК, и все они не однозначны. На сегодняшний день проводятся рандомизированные клинические исследования [3]. Так, в отечественной литературе было показано, что профилактическое введение ММСК не изменяет частоту развития хронической РТПХ [14]. Пока ещё не получены неоспоримые доказательства того, что именно трансплантация ММСК приводит к позитивной иммуномодуляции *in vivo*. Однако можно сделать вывод, что ко-трансплантация ММСК может быть безопасной при надлежащем контроле качества полученных клеток. Иммуномодулирующее свойство ММСК связывают с действием цитокинов и непосредственным влиянием на иммунокомпетентные клетки, являясь «клетками-дипломатами», регулирующими межклеточные взаимоотношения [2, 15]. Такое свойство ММСК служит основой для ещё одной сферы их клинического применения – терапии аутоиммунных заболеваний (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, демиелинизирующие заболевания и др.).

Следует отметить, что спектр показаний для клинического применения ММСК расширяется: имеются данные о противоопухолевом эффекте ММСК, в том числе в случае солидных опухолей [16] и т.д.

Цель настоящего исследования: изучить качество и безопасность криоконсервированных ММСК плаценты, показанных для клинического применения.

Материал и методы

Сбор 90 образцов плаценты от доноров (средний возраст $30,1 \pm 2,4$ лет, средний срок гестации $39,5 \pm 0,7$ недель), подписавших информированное согласие в дородовом периоде, для неперсонализированного криохранения ММСК плаценты проводился в родильных домах № 8, 10 и 17 г. Москвы. Все доноры плаценты прошли бактериологический и

вирусологический контроль. При выявлении положительных результатов образцы были отбракованы и в настоящее исследование не включались.

Образцы плаценты доставлялись в ГБУЗ «БСК ДЗМ». Для получения первичной культуры из плаценты проводилась ее гомогенизация и обработка 0,1% раствором коллагеназы. Культивирование ММСК плаценты проводилось до достижения достаточного для клинического применения количества клеток (4–5 пассаж) по стандартной методике, согласно зарегистрированной медицинской технологии [17]. Перед криоконсервацией каждый образец ММСК был разведен 0,9% физиологическим раствором с добавлением 10% человеческого альбумина (Baxter, Германия), криоконсервирующего раствора ДМСО в сочетании с декстраном-40 в количестве 10% от объема конечного продукта. Далее образцы ММСК подвергали немедленной криоконсервации.

Количественный анализ ДНК вирусов HHV1, HHV2, EBV, CMV, HHV-6 в гомогенате плаценты и в ММСК 3–4 пассажей (при достижении достаточного для клинического применения количества клеток) проводили методом ПЦР с регистрацией результата в режиме реального времени на термоциклере Rotor-Gene 3000 (Corbett Research, Австралия). Количественная оценка уровня вирусной нагрузки клеточного материала оценивалась в копиях вирусной ДНК на 10^5 клеток (по количеству копий гена b-глобина человека).

Индукцию дифференцировки ММСК плаценты в остео- и адипогенном направлениях проводили с использованием наборов Stem Pro для дифференцировки ММСК в остеоциты и адипоциты с подтверждением цитохимических реакций на щелочную фосфатазу и судан (черный и красный, соответственно) (НПФ «Абрис», Россия; GIBCO, США).

Уровень экспрессии поверхностных клеточных маркеров ММСК (3–5 пассаж): CD73, CD 90, CD105, CD45, CD34, CD14, CD133, CD19, HLA DR – определяли методом проточной цитофлюориметрии с помощью станции FACS Calibur Becton Dickinson (США), меченными флуорохромами FITC и PE антителами-(BD Biosciences и Becton Coulter, США).

Проводили кариотипирование ММСК на 4–5-м и 9–10-м пассажах с помощью анализа частоты анеуплоидии методом кариотипирования метафазных хромосом (15–20 метафаз) по стандартной методике [18].

После утверждения протокола клинического применения ММСК Локальными комитетами по этике и учеными советами в клинических центрах проводилась выдача ММСК плаценты для клинического применения.

Выдача 42 доз (из 26 образцов плаценты) ММСК плаценты осуществлялась после получения запроса из клинического центра по медицинским показаниям, выписки из истории болезни пациента, содержащей показания к применению ММСК, за подписью лечащего врача и руководителя учреждения, а также ряда документов, регламентирующих транспортировку и обоснование применения ММСК у данного пациента. Трансплантация образцов ММСК плаценты, выданных ГБУЗ «БСК ДЗМ», проводилась в клинических центрах ФГБУ РДКБ, ЦНИИ Гастроэнтерологии, Нижегородской областной детской клинической больницы и ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Известно, что терапевтический эффект образца ММСК зависит от дозы, которая определяется количеством клеток на единицу массы тела пациента. Поэтому целью культивирования ММСК «ex vivo» было добиться необходимого количества клеток для достижения оптимальной дозы в каждом конкретном случае. Таким образом, из одного образца плаценты было получено несколько клеточных препаратов.

При планировании клинического применения ММСК плаценты доза подбиралась с учетом количества ММСК на 1 кг массы тела пациента. Досье образцов ММСК с информацией по каждому из них, начиная от начала выделения, культивирования, закладки на криохранилище и выдачи, хранятся в ГБУЗ «БСК ДЗМ», для чего разработаны и используются соответствующие формы документов и базы данных.

К образцу дозы ММСК плаценты, выданному для трансплантации прилагались:

- информация об общем количестве ММСК в образце;

- данные, свидетельствующие о качестве и безопасности ММСК (результаты инфекционного контроля, кариотипирования (анализ метафазных хромосом и анализа частоты анеуплоидии), иммунологической принадлежности);

- информация о любых отклонениях, возникших при сборе, обработке, хранении дозы ММСК плаценты;

- протокол изъятия дозы ММСК плаценты из криохранилища в связи с передачей в трансплантационный центр, где содержится следующая информация – номер и штрих-код образца плаценты, название клинического центра, дата закладки и дата изъятия образца из криохранилища, личные данные курьера.

Транспортировка замороженного образца ММСК плаценты была жестко регламентирована и осуществлялась в максимально сжатые сроки в течение 24–36 ч при температуре не выше -135°C , с соблюдением норм пересылки контейнеров, содержащих жидкий азот.

При клиническом применении ММСК плаценты в ГБУЗ «БСК ДЗМ» клиническим центром предоставлялась информация об особенностях трансплантации (наличии острых реакций, связанных с введением клеточного препарата, если они были), данные о приживлении трансплантата, показателях химеризма. Полученные данные хранятся как на бумажных носителях, так и заносятся в электронную базу. Данные актуализируются по мере поступления новой информации.

Результаты и обсуждение

За период с 2011 г. по март 2013 г. в ГБУЗ «БСК ДЗМ» было заготовлено 90 образцов ММСК Пл – 36 аутогенных (для совместного применения с ГСК пуповинной крови) и 54 аллогенных, согласно зарегистрированной медицинской технологии [13].

Культивируемые ММСК плаценты имели фибробластоподобную морфологию (веретенообразную форму). При проведении индукции остеогенной и адипогенной дифференцировок были выявлены характерные для каждой из них морфологические изменения.

Все образцы ММСК плаценты прошли бактериологический и вирусологический контроль. При культивировании ММСК плаценты было отбраковано

18 образцов (20%): 10 образцов (11,1%) из-за бактериальной контаминации (*Candida albicans*-5, *enterococcus faecalis*-1, *stenotrophomonas maltophilia*-1, *corynebacterium urealiticum*-1, *micrococcus spp.*-1, *flavobacterium spp.*-1); 3 образца (3,3%) из-за вирусной контаминации (ДНК EBV – 1, ДНК HHV-6 – 2); 2 образца (2,2%) по техническим причинам; 3 образца (3,3%) из-за отсутствия роста в культуре. Причиной контаминации образцов ММСК плаценты чаще всего становилась грибковая инфекция в виде *Candida albicans*.

Иммунофенотипирование ММСК плаценты проводилось перед закладкой на криохранение. По данным иммунофенотипирования, заготовленные для клинического применения ММСК плаценты имели иммунофенотип, характерный для клеток мезенхимального происхождения: CD73⁺/CD90⁺/CD105⁺; CD45⁻/CD34⁻/CD14⁻/CD133⁻/CD19⁻/HLA-DR⁻. Жизнеспособность полученных ММСК плаценты проверялась методом окраски трипановым синим и 7AAD и составляла не менее 95%.

Все образцы ММСК плаценты прошли кариологический контроль на 4–5 и 9–10 пассажах с целью обнаружения потенциально опасных для пациентов генетических отклонений путём анализа частоты анеуплоидии. В 2 случаях в культуре ММСК плаценты здоровых женщин с новорожденными мальчиками, был выявлен клон клеток, несущих две половые хромосомы X и Y, так на 4 пассаже было выявлено 46y/46x в соотношении 12/8 и 25/5, соответственно, к десятому пассажу – 4/18 и 6/14, соответственно. У остальных ММСК плаценты здоровых женщин с новорожденными мальчиками (36 случаев) отмечался женский кариотип.

В одной культуре ММСК плаценты с женским кариотипом и новорожденным мальчиком были обнаружены клоны анеуплоидных клеток – транслокация 22-го участка короткого плеча и 13-го участка длинного плеча 1 и 5 хромосом и появление дополнительной аномальной хромосомы (t(1;5) (p22;q13), der (13) add (p11)). Аномальные клоны были обнаружены на 4 пассаже и сохранялись до поздних этапов культивирования. При кариологическом исследовании периферической крови этой женщины, новорожденного ребенка и ее мужа не было выявлено аномальных клонов. В этой семье есть старший больной ребенок с диагнозом: острый лимфобластный лейкоз, у которого при кариологическом исследовании на момент установления диагноза была выявлена транслокация 8 и 14 хромосом –

t(8;14). Для понимания появления аномальных клонов при культивировании ММСК плаценты необходимо продолжение исследований.

Таким образом, в ГБУЗ «БСК ДЗМ» было заготовлено 72 образца (193 дозы) ММСК плаценты для клинического применения.

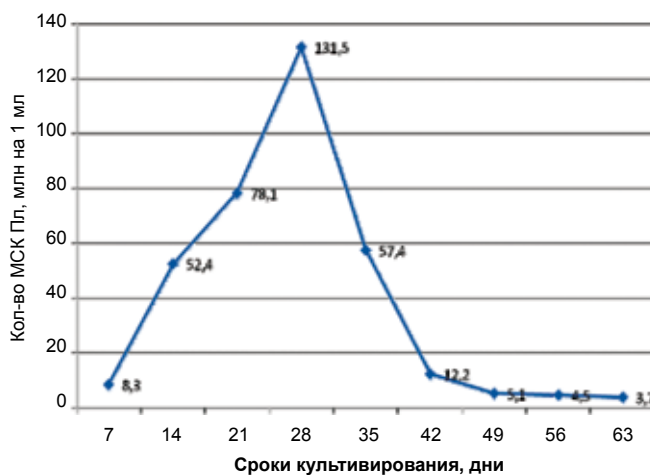
Оценка пролиферативного индекса ММСК плаценты проводилась на каждом пассаже вплоть до 10 по количеству ММСК плаценты (табл. 1).

Более высокий пролиферативный индекс ММСК плаценты отмечался на 3–4 пассажах, по сравнению с показателем на 9–10 пассажах. Начиная с 7 пассажа отмечалось выраженное снижение роста клеточной популяции ММСК плаценты (табл. 1, рис.).

Максимальное количество ММСК плаценты, необходимое для клинического применения, достигалось на 3–4 пассажах (рис. 1).

Полученные клеточные препараты были использованы для клинического применения 22 пациентам. Показаниями для трансплантации ММСК плаценты у пациентов были следующими:

- улучшение приживления ГСК и профилактика РТПХ при ко-трансплантации с ГСК (4 дозы из 4 образцов плаценты; 2 пациента),
- терапия РТПХ (26 доз из 13 образцов плаценты; 14 пациентов),
- восстановление печени (12 доз из 9 образцов плаценты; 6 пациентов).



Сроки культивирования, необходимые для получения достаточного для клинического применения количества ММСК плаценты (21–28 сут.)

Таблица 1. Пролиферативный индекс ММСК плаценты при длительном культивировании

Параметры	Пролиферативный индекс ММСК Пл (n = 72)								
	2 пассаж	3 пассаж	4 пассаж	5 пассаж	6 пассаж	7 пассаж	8 пассаж	9 пассаж	10 пассаж
Среднее значение ± стандартное отклонение	4,7±2,1	5,7±2,0	6,6±1,6	6,0±2,4	5,7±2,8	5,6±2,7	4,8±1,8	4,8±2,3	3,7±1,6
Медиана (25 и 75 процентиль)	4 (1,5–7,5)	5,94 (3,8–6,75)	6,36 (4,8–8,7)	6,36 (4,3–7,3)	4,5 (3,8–6,0)	4,89 (3,3–7,0)	4,95 (3,0–5,4)	4,2 (2,8–6,5)	3,6 (2,5–4,3)
p	p ₂₋₃ = 0,04; p ₃₋₄ = 0,001; p ₄₋₅ = 0,08; p ₅₋₆ = 0,05; p ₆₋₇ = 0,80; p ₇₋₈ = 0,03; p ₈₋₉ = 0,92; p ₉₋₁₀ = 0,049								

Трансфузию ММСК плаценты проводили 16 больным детям (диагноз: острый лимфобластный лейкоз — 4, острый миелобластный лейкоз — 3, анемия Фанкони — 3, приобретенная апластическая анемия — 1, синдром Вискотта — Олдрича — 1, миелодиспластический синдром — 2 и ювенильный миело-моноцитарный лейкоз — 2), из них 9 мальчиков и 7 девочек от 1 до 18 лет; и 6 взрослым (5 женщин в возрасте от 50 до 62 лет и 1 мужчине 52 лет (диагнозы: цирроз печени, связанный с HBV-инфекцией — 3, первичный билиарный цирроз печени — 2, хронический панкреатит — 1).

Во всех случаях применялись аллогенные ММСК. Доза клеточного препарата и у детей, и у взрослых пациентов составила 2,0 млн/кг.

8 пациентам (27%) ко-трансплантация ММСК плаценты была проведена однократно, 3 пациентам

(10%) — двукратно, 4 пациентам (13,3%) — трёхкратно, 1 (3,3%) — четырёхкратно.

У 12 детей (75%) на введение ММСК плаценты не было отмечено острых реакций (острые реакции, развившиеся во время трансфузии или в течение 1–2 ч после неё — фебрильные, в т.ч. инфекционные, токсические, аллергические, острое поражение лёгких и др.).

У 4 детей (25%, пациенты А, Б, В, Г) на введение ММСК плаценты отмечались острые реакции: у всех 4 больных были жалобы на нехватку воздуха, у пациентов Б и В отмечался болевой синдром (головная боль и боль за грудиной), у пациентов А и Б определялся озноб с повышением температуры тела до субфебрильных значений, у пациента А была отмечена гипертония на фоне гипотензивной терапии, отечный синдром, олигоурия и азотемия (табл. 2).

Таблица 2. Острые реакции, возникшие у пациентов на введение ММСК плаценты

Пациенты	Озноб и субфебрильная температура	Гипертония	Отечный синдром	Олигоурия	Азотемия	Нехватка воздуха	Болевой синдром
А	+	+	+	+	+	+	–
Б	+	–	–	–	–	+	+
В	–	–	–	–	–	+	+
Г	–	–	–	–	–	+	–

Следует отметить, что пациенту Б проводилась трансфузия 1 дозы ММСК плаценты и из этого же образца плаценты вводились 2 дозы клеточного препарата двум другим пациентам, у которых не отмечалось острых реакций на введение. Пациенту В также проводилась трансфузия 1 дозы ММСК плаценты, и из этого же образца вводились 2 дозы клеточного препарата двум другим пациентам, у которых также не отмечалось острых реакций. Все это показывает, что развитие побочных реакций у пациентов на введение ММСК плаценты связано либо с реакцией на ММСК (с 10% человеческим альбумином и 10% ДМСО), или с клиническим состоянием самого пациента на момент введения клеточного препарата. Все реакции длились не более 1 ч и купировались введением антигистаминных препаратов.

Все взрослые пациенты получали ММСК плаценты двукратно, острых реакций во время и после введения не наблюдалось.

Представленные данные показали, что ММСК плаценты обладают рядом существенных преимуществ

для клинического применения: отсутствие дополнительного инвазивного вмешательства при получении плаценты, высокий пролиферативный индекс ММСК плаценты на 4 пассаже культивирования, позволяющий получить необходимое для достижения максимального терапевтического эффекта количество клеток. Развитие современных методов контроля качества (строгое ведение документации по GMP стандартам, контроль биологических характеристик: количество клеток для достижения оптимальной дозы, бактериологический и вирусологический контроль, подтверждение принадлежности клеток к ММСК и оценка их биологической безопасности) выдаваемых образцов ММСК плаценты позволяет исключить использование некачественного и небезопасного материала, что предопределяет успешность клинического применения.

Таким образом, аллогенные ММСК плаценты человека, заготовленные строго с соблюдением контроля качества, безопасны при клиническом применении.

ЛИТЕРАТУРА:

- Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143–7.
- Bourin P., Sensebe L., Planat-Bechard V. et al. Culture and use of mesenchymal stem cells in phase I and II clinical trials. *Stem cells international* 2010; 2: 1–8.
- Battivala M., Hematti P. Mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation. *Cytotherapy* 2009; 11(5): 503–15.
- Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315–7.
- Rebeca S.Y., Wong Mesenchymal stem cells: angels or demons? *Journal of biomedicine and biotechnology* 2011; 2: 1–9.

6. Kebriaei P., Robinson S. Treatment of graft-versus-host-disease with mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy* 2011; 13(3): 262–8.
7. Aldinucci A., Rizzetto L., Pieri L. et al. Inhibition of immune synapse by altered dendritic cell actin distribution: a new pathway of mesenchymal stem cell immune regulation. *J. Immunol.* 2010; 185(9): 5102–10.
8. Григорян А.С. Трансплантация мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток для лечения реакции «трансплантант против хозяина». *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* 2006; 3 (5): 31–2.
9. Ringdén O., Uzunel M., Rasmussen I. et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation* 2006; 81(10): 1390–7.
10. Zhu F., Guo G.H., Chen W. et al. Effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplantation on the inflammatory response

and lung injury in rabbit with inhalation injury. Zhonghua Shao Shang Za Zhi. 2010; 26(5): 360–5.

11. Le Blanc K., Frasson F., Ball L. et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. Lancet 2008; 371(9624): 1579–86.

12. Le Blanc K., Rasmusson I., Sundberg B. et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. Lancet 2004; 363(9419): 1439–41.

13. Lazarus H.M., Koc O.N., Devine S.M. et al. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. Biol Blood Marrow Transplant. 2005; 11(5): 389–98.

14. Петинати Н.А. Профилактика реакции трансплантат против хозяина у больных гемобластозами после трансплантации аллоген-

ных гемопоэтических стволовых клеток с помощью мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток донора. [диссертация] Москва: Гематологический научный центр; 2013 г.

15. Jorgensen C. Mesenchymal stem cells in arthritis: role of bone marrow microenvironment. Arthritis Res. Ther. 2010; 12(4): 135.15.

16. Han Z., Jing Y., Zhang S. et al. The role of immunosuppression of mesenchymal stem cells in tissue repair and tumor growth. Cell & Bioscience 2012; 2: 8.

17. Яковлева М.В., Астрелина Т.А., Осипова Е.Ю. и др. Экспансия ex vivo мезенхимальных стволовых клеток. Медицинская технология от 13.10.2010; ФС №2010/374.

18. Буяновская О.А. Частота анеуплоидии в культурах мезенхимных стволовых клеток человека. [диссертация] Москва: Российской академии медицинских наук Медико-генетический научный центр РАМН; 2013 г.

Поступила 12.08.2013

Система для проведения экстракорпорального фотофереза – UVAR XTS («Therakos», США)

Экстракорпоральный фотоферез представляет собой метод, основанный на сочетании лейкофереза и облучения лейкоцитов, предварительно обработанных фотосенсибилизатором (8-метоксипсораленом), ультрафиолетовым светом диапазона А (320 – 400 нм).

Область применения:

Лечение онкологических, аутоиммунных, дерматологических и пролиферативных заболеваний:

- кожная Т-клеточная лимфома
- уменьшение реакции трансплантат против хозяина (РТПХ)
- предотвращение отторжения органов после трансплантации
- склеродермия
- дерматиты, псориаз
- ревматоидный артрит
- болезнь Крона

Особенности системы:

Безопасность для пациента:

- одноразовая система расходных материалов
- исключение риска воздушной эмболии
- исключение риска заражения
- осуществление контроля поступления антикоагулянта
- контроль давления в системе
- контроль скорости забора и возвращения крови пациенту
- возможность изменения параметров процесса в течение процедуры
- при необходимости автоматическая блокировка системы магистралей.

Простота в работе и обслуживании:

- удобное использование для оператора
- конструкция аппарата и расходных материалов исключают возможность ошибки при загрузке
- однократная венопункция
- полная автоматизация процедуры
- быстрый и безопасный извлечение компонентов процедурного набора после завершения процедуры
- наличие ключа данных, на котором фиксируется вся информация о протекании процесса



Система для выделения стволовых клеток – Serox («BioSafe», Швейцария)

• Самая современная, компактная, мобильная система, позволяющая выделять гемопоэтические стволовые клетки из пуповинной, периферической крови, костного мозга, а также осуществлять их отмывку после криохранилища.

• Идеальная система для быстрой автоматической обработки крови или ее компонентов с высоким уровнем жизнеспособности клеток после процедуры.

• Serox позволяет проводить 9 протоколов (выделение стволовых клеток, концентрация стволовых клеток и их отмывка).

• Принцип действия Serox основан на сепарации центрифугированием, позволяющем разделять компоненты крови в соответствии с их плотностью и размером.

• Система предназначена для применения в онкогематологии и клеточной терапии (регенеративной медицине), где необходимо получение определенных компонентов крови.

• Обработка крови или ее компонентов происходит в закрытой одноразовой стерильной системе.

• Компоненты крови собираются в специальные мешки и готовы для дальнейшего использования (криоконсервация, наращивание in vitro, трансплантация и др.).

Эксклюзивный представитель ООО «Инновационные Медицинские Технологии»
Москва, Хорошевское шоссе, д.43 Г, тел: +7(495)380-36-62, факс: +7(499)707-01-64
E-mail: dr_fedorov@imt-stemcells.ru, gdv@imt-stemcells.ru, nmv@imt-stemcells.ru



Автоматизированная система для хранения стволовых клеток в жидком азоте – BioArchive («Thermogenesis», США)

Система рассчитана на 3626 образцов стволовых клеток

- Низкая стоимость операционного процесса
- низкий расход жидкого азота на один образец во время хранения и программного замораживания
- полностью автоматизированный процесс сокращает время работы персонала

- Снижение затрат на оборудование
- не требуется большого количества дьюаров для хранения (одна система BioArchive заменяет 6–7 дьюаров)
- наличие двух встроенных программных замораживателей

- Безопасность и защита
- полузакрытая система сокращает воздействие азота на оператора
- источник бесперебойного питания позволяет разместить/извлечь образец в случае отключения электричества
- параметры 24-часового контроля и управления доступом включают в себя:

- Мониторинг уровня жидкого азота
- Пароль для доступа
- ID номер для оператора, хранящийся в базе данных

Интегрированный программный замораживатель

- минимизирует температурные колебания
- отсутствует этап ручного переноса образца из программного замораживателя в дьюар для хранения

Криоконтейнер на 25 мл

- Постоянный геометрический размер образца
- Воспроизводимый процесс заморозки для каждой единицы
- Возможность роботизированной закладки на хранение и извлечение образцов
- Снижается вероятность ошибки, связанной с человеческим фактором

Система управления образцом

- Использование штрих-кода исключает ошибки при перемещении образца
- Отчет по образцу:
 - История образца
 - Инвентаризация
 - График замораживания

Расходные материалы для культивирования стволовых клеток «CellGenix» (Германия):

Комплекты CellGo для культивирования клеток в закрытых системах.

- CellGo HPC для культивирования гемопоэтических клеток, NK-клеток, Т-клеток
- CellGo DC для культивирования дендритных клеток

Бессывороточные среды CellGo:

- SCGM для культивирования: гемопоэтических прогениторных клеток, NK-клеток, Т-клеток
- DC для культивирования дендритных клеток

Культуральные мешки Vuelife

(сделаны из FEP Teflon)

CellGo цитокины

Для увеличения гемопоэтических прогениторных клеток, NK-клеток, Т-клеток и дендритных клеток



www.imt-stemcells.ru