

Миграция мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при системном и локальном введении на экспериментальной модели паркинсонизма

М.М. Зафранская^{1,2}, Д.Б. Нижегородова^{1,2}, Н.Е. Алейникова¹, Т.Е. Кузнецова^{2,3},
М.И. Ванслав¹, Т.В. Игнатович¹, А.В. Бойко¹, В.В. Пономарев¹

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь;

²Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова
Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь;

³Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Болезнь Паркинсона представляет собой важную медико-социальную проблему во всем мире, в связи с чем большое внимание уделяется доклиническим исследованиям, позволяющим оценить эффективность новых методов лечения, в том числе клеточной терапии.

Цель работы — оценить миграционную способность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) при различных способах введения на экспериментальной модели паркинсонизма у лабораторных крыс.

Материалы и методы. ММСК, окрашенные флуоресцентным красителем PKH26, вводили экспериментальным животным с ротенон-индуцированным паркинсонизмом системно (внутривенно) или локально (интраназально и интратекально). Миграционную способность ММСК оценивали на 1-е и 21-е сутки после введения методом иммунофлуоресцентной микроскопии.

Результаты. Миграционная способность ММСК как при системном, так и при локальном введении наиболее выражена в группе животных с экспериментальной моделью паркинсонизма относительно контрольной группы. Она характеризовалась максимальным накоплением клеток в головном мозге в 1-е сутки после введения с сохранением жизнеспособности в области нейровоспаления на протяжении 21 сут.

Заключение. Локальное введение (интраназально и интратекально) приводит к более быстрому накоплению ММСК в головном мозге как животных с экспериментальной моделью паркинсонизма, так и здоровых крыс. Внутривенное введение клеточных культур также способствует проявлению миграционных свойств ММСК и может быть взято за основу при планировании дальнейших исследований клеточной терапии при болезни Паркинсона.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, болезнь Паркинсона, экспериментальная модель паркинсонизма, миграция, клеточная терапия.

Адрес для корреспонденции: 223040, Беларусь, Минск, а-г. Лесной, д. 31. БелМАПО. E-mail: zafranskaya@gmail.com. Зафранская М.М.

Для цитирования: Зафранская М.М., Нижегородова Д.Б., Алейникова Н.Е., Кузнецова Т.Е., Ванслав М.И., Игнатович Т.В., Бойко А.В., Пономарев В.В. Миграция мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при системном и локальном введении на экспериментальной модели паркинсонизма. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2019; 13(2): 32–40.

DOI: 10.25692/ACEN.2019.2.4

The migration of multipotent mesenchymal stromal cells after systemic and local administration in an experimental model of Parkinson's disease

Marina M. Zafranskaya^{1,2}, Darya B. Nizhegorodova^{1,2}, Natalia E. Aleynikova¹, Tatyana E. Kuznetsova^{2,3},
Margarita I. Vanslav¹, Tatyana V. Ignatovich¹, Alexander V. Boiko¹, Vladimir V. Ponomarev¹

¹Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus;

²International Sakharov Environmental Institute of the Belarusian State University, Minsk, Belarus;

³Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Parkinson's disease is an important medico-social problem worldwide, with a lot of attention paid to preclinical studies to assess the efficacy of new treatments, including cell therapy.

Study objective. To assess the migratory ability of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) using different methods of administration in an experimental model of Parkinson's disease in laboratory rats.

Materials and methods. MMSC, stained with the PKH26 fluorescent dye, were systemically (intravenously) or locally (intranasally and intrathecally) administered to experimental animals with rotenone-induced Parkinson's disease. The migratory ability of MMSC was assessed on days 1 and 21 after administration, using immunofluorescence microscopy.

Results. The migratory ability of MMSC after both systemic and local administration was more pronounced in the animal group with the experimental model of Parkinson's disease compared with the control group. It was characterized by maximum accumulation of cells in the brain on the first day after administration, with viability preserved in the area of neuronal inflammation throughout 21 days.

Conclusion. Local administration (intranasal and intrathecal) leads to faster accumulation of MMSC in the brain of both the animals with the experimental model of Parkinson's disease and healthy rats. Intravenous administration of cell cultures also helps to reveal the migratory properties of MMSC and can form the basis for planning further studies of cell therapy in Parkinson's disease.

Keywords: multipotent mesenchymal stromal cells, Parkinson's disease, experimental model of Parkinson's disease, migration, cell therapy.

For correspondence: 223040, Belarus, Minsk, Lesnoy, 31. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education. E-mail: zafranskaya@gmail.com. Zafranskaya M.M.

For citation: Zafranskaya M.M., Nizhegorodova D.B., Aleynikova N.E., Kuznetsova T.E., Vanslav M.I., Ignatovich T.V., Boiko A.V., Ponomarev V.V. [The migration of multipotent mesenchymal stromal cells after systemic and local administration in an experimental model of Parkinson's disease]. *Annals of clinical and experimental neurology* 2019; 13(2): 32–40. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2019.2.4

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой нейродегенеративное заболевание с двигательными расстройствами, которые проявляются в результате гибели дофаминергических нейронов черного вещества среднего мозга [1, 2]. На данный момент патогенетическая терапия БП отсутствует, что обосновывает поиск и разработку новых подходов в лечении данного заболевания [3, 4].

Перспективным терапевтическим направлением при БП может быть использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) [5]. При этом целесообразность применения такой клеточной терапии БП обусловлена доказанной безопасностью ММСК и их следующими функциональными особенностями:

- миграцией в поврежденные структуры головного мозга [6, 7];
- дифференцировкой в клетки нейроэктодермального происхождения *in vitro* под влиянием ростовых факторов [8, 9] и *in situ* в условиях невральное микроокружения [10, 11];
- ингибированием апоптотической гибели нейронов [12];
- повышением выживаемости нейронов и олигодендроцитов в условиях развития нейродегенеративного процесса [13, 14];
- стимуляцией нейрогенеза [15, 16];
- подавлением активации клеток микроглии [17, 18];
- ингибированием передачи структурообразующего белка телец Леви — α -синуклеина путем модуляции активности N-метил-D-аспартатных рецепторов [19];
- снижением степени выраженности оксидантного стресса [20];
- подавлением функциональной активности иммунокомпетентных клеток, обуславливающих развитие аутоиммунного повреждения нейронов [21–23];
- продукцией нейротрофических факторов (GDNF, BDNF, NGF, IGF-1, VEGF и др.), поддерживающих структурную организацию отдельных клеток головного мозга и нейрональной сети в целом [24, 25].

Ключевыми вопросами остаются изучение биораспределения ММСК, способ доставки биомедицинского клеточного продукта в область повреждения (хоуминг), установление кратности введения и клеточности культур, определение

критериев клинко-лабораторной оценки эффективности клеточной терапии.

Цель настоящего исследования — оценка миграционной способности ММСК при различных способах введения на экспериментальной модели паркинсонизма у лабораторных животных.

Материалы и методы

Материалом для исследования явились культуры ММСК 1–3-х пассажей ($n=15$) лабораторных крыс.

Экспериментальный паркинсонизм моделировали у 6-месячных крыс-самок Вистар ($n=12$) массой 300 г путем ежедневной подкожной инъекции в ростральные участки межлопаточной области 2 мг/кг ротенона («Sigma»), растворенного в липовенозе («Fresenius Kabi»), в конечном объеме 0,3 мл [26]. Крысам-самкам контрольной группы ($n=12$) аналогичного возраста вводили 0,3 мл липовеноза. Крысы содержались в стандартных условиях вивария (12-часовой световой день, температура 18–25°C, свободный доступ к воде и пище). Все исследования выполнены в соответствии с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 02.01.1991) и при одобрении протокола доклинических исследований локальным этическим комитетом.

Валидность экспериментальной модели подтверждали клинко-неврологическими и патоморфологическими исследованиями. Эффективность моделирования признаков паркинсонизма оценивали на 2-е, 4-е, 7-е и 14-е сутки эксперимента. Дизайн эксперимента представлен на рис. 1.

У крыс с экспериментальным паркинсонизмом, начиная со 2-х суток после введения ротенона, по сравнению с контрольной группой выявлены нарушения спонтанной двигательной активности, эмоциональная лабильность в совокупности с увеличением неактивного времени, изменение частоты груминга, нарушения ориентировочно-исследовательских реакций, мышечная ригидность и вегетативные симптомы (рис. 2). Все это относится к характерным проявлениям паркинсонизма, вызванным действием ротенона, и согласуется с данными многих исследователей [27–29].

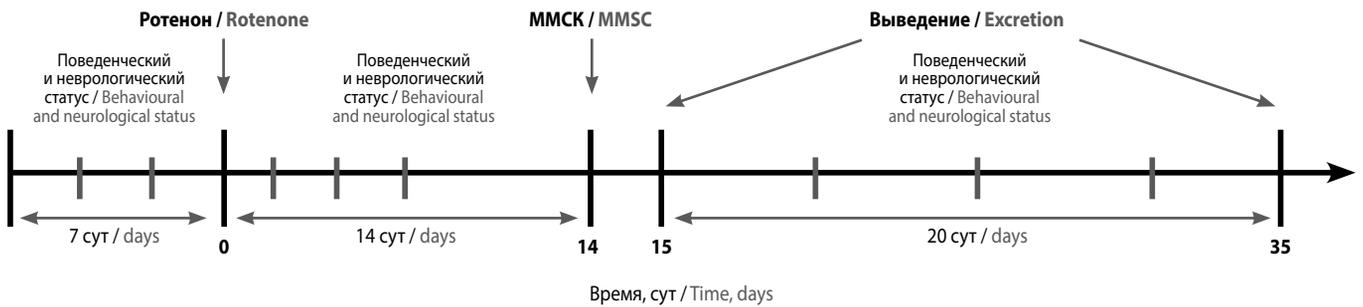


Рис. 1. Дизайн исследования

Fig. 1. Study design

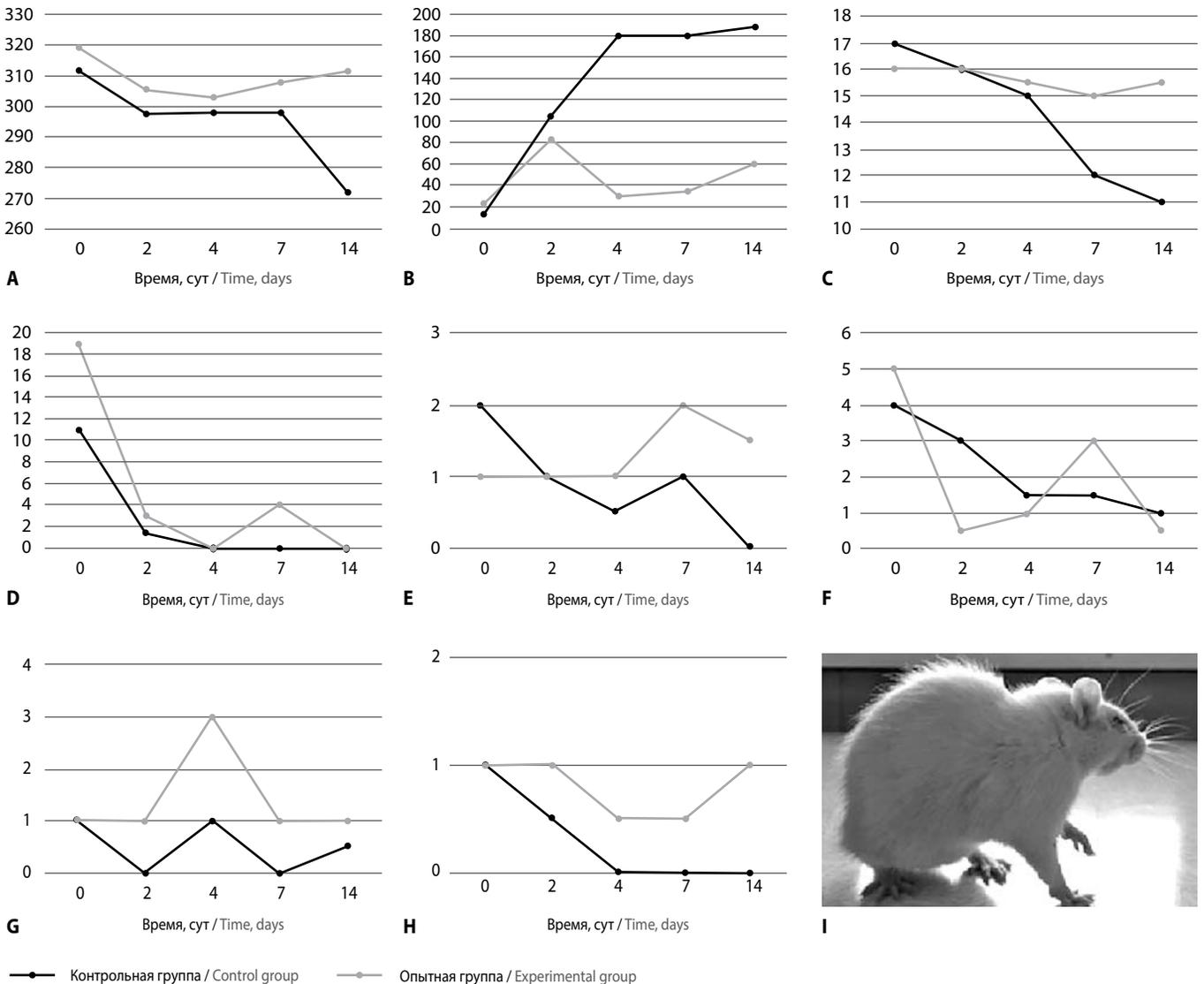


Рис. 2. Динамика локомоторной активности, поведенческого и вегетативного статуса у животных с экспериментальным паркинсонизмом

A — масса тела (г); B — неактивное время (с); C — мышечная ригидность (длина от холки до хвоста, см); D — вертикальная активность (число стоек); E — поисковая активность (количество норковых рефлексов); F — груминг; G — акты дефекации; H — акты урикации; I — крыса опытной группы с неврологическим симптомом «горбатости» спины

Fig. 2. Changes in the locomotor activity, behavioural and autonomic status in animals with experimental Parkinson's disease.

A: body weight (g); B: inactive time (sec); C: muscle rigidity (length from withers to tail, cm); D: vertical activity (number of stands); E: search activity (number of hole exploratory behaviour); F: grooming; G: defecation episodes; H: urination episodes; I: a rat in the experimental group with a neurological symptom of a 'hump' back

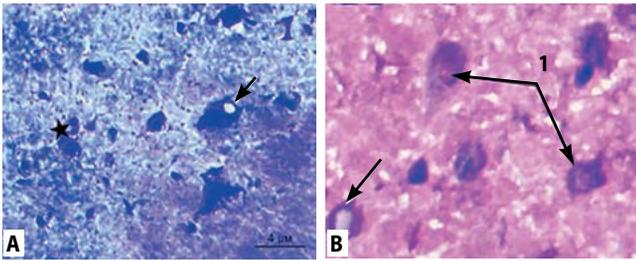


Рис. 3. Микрофотография фронтальных срезов черной субстанции мозга крысы на 14-е сутки после введения rotenone в дозе 2 мг/кг. А — окраска по Нислю; В — окраска гематоксилином и эозином (звездочкой указаны нейроны с тигролизом, белой стрелкой — вакуоль, 1 — тельца Леви), ув. 400

Fig. 3. Microphotography of the frontal sections of the rat substantia nigra on the 14th day after administration of rotenone at a dose of 2 mg/kg. A: Nissl staining; B: haematoxylin and eosin staining (asterisk indicates neurons with chromatolysis, white arrow indicates a vacuole, 1 indicates Lewy bodies), magnification $\times 400$

Неврологический статус экспериментальных животных характеризовался значимым нарастанием олигокинезии (8 баллов на 4-е сутки), постуральной нестабильности (7 баллов на 4-е сутки), неустойчивости походки (3 балла к 9-м суткам), тремора (2 балла к 14-м суткам) при отсутствии неврологической симптоматики у животных контрольной группы.

Для патоморфологического исследования нефиксированный мозг лабораторных животных после глубокого замораживания помещали на криостатный блок и готовили фронтальные срезы толщиной 7 мкм на микротоме-криостате HM 525 («Microm»), которые окрашивали тионином и метиленовым синим по Нислю, гематоксилином и эозином. Уровень срезов определяли по стереотаксическому атласу мозга крысы [30]. Фронтальные срезы, содержащие стриатум, делали на уровне от $-1,20$ до $-1,40$ от брегмы, а содержащие черную субстанцию — от $-5,40$ до $-5,80$ от брегмы.

Введение крысам rotenone в дозе 2 мг/кг в течение 14 сут приводило к развитию деструктивных изменений в nigrostriatalной системе с образованием телец Леви в единичных нейронах (рис. 3). В большинстве нейронов не визуализировались ядра с ядрышками, клетки были гиперхромными или с частичным тигролизом. Вблизи некоторых деструктивно измененных нейронов отмечалось скопление глиальных клеток (нейрофагия). Деструктивные изменения нейронов сохранялись в течение 7 сут после окончания введения rotenone.

ММСК выделяли из мононуклеарной фракции клеток красного костного мозга бедренных костей крыс ($n=5$), полученной центрифугированием на градиенте плотности Hispaque-1077 («Sigma»). Суспензию мононуклеарных клеток после двукратного отмывания в фосфатном буферном растворе («Gibco») с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС; «Thermo Fisher Scientific») культивировали в чашках Петри в среде на основе DMEM («Thermo Fisher Scientific»), содержащей 10% ЭТС, 1% L-глутамин («Lonza») и 1% антибиотика-антимикотика («Sigma»), при 37°C в атмосфере с 5% CO_2 в CO_2 -инкубаторе. Для пассирования клеточных культур использовали 0,25% раствор трипсина с ЭДТА («Lonza»).

ММСК 1–3 пассажей в концентрации 1×10^7 кл/мл инкубировали с 2×10^{-6} М РКН26 («Sigma») в течение 5 мин с

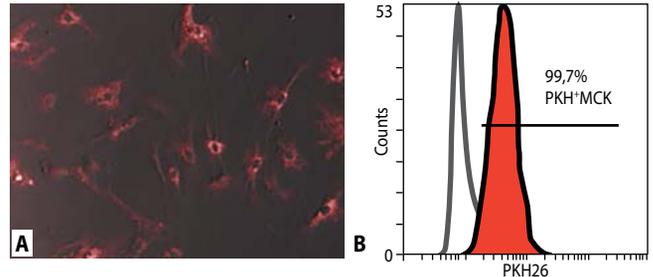


Рис. 4. Культура РКН26-позитивных ММСК 1-го пассажа костного мозга.

А — микрофотография флюоресценции РКН26-позитивных ММСК в культуре при микроскопии, ув. 100; В — оригинальная гистограмма детекции флюоресценции РКН26-позитивных ММСК проточной цитометрией

Fig. 4. PKH26-positive MMSC culture on first passage from the bone marrow.

А: microphotograph of PKH26-positive MMSC culture using fluorescence microscopy, magnification $\times 100$; В: original histogram of PKH26-positive MMSC fluorescence detection using flow cytometry

последующей остановкой реакции добавлением эквивалентного объема ЭТС. После двукратного отмывания осуществляли контроль жизнеспособности и окрашивания клеток методами проточной цитофлуориметрии и флюоресцентной микроскопии (рис. 4).

РКН26-позитивные ММСК вводили на пике клинической картины (14-е сутки после введения rotenone). Использовали следующие способы введения: внутривенно — 1×10^6 кл/кг в 0,3 мл физиологического раствора; интраназально — 1×10^5 кл/животное в 0,1 мл физиологического раствора; интратекально — 1×10^5 кл/животное в 0,1 мл физиологического раствора.

Животных выводили из эксперимента на 1-е и 21-е сутки после введения ММСК. Головной мозг после глубокого замораживания помещали на криостатный блок и готовили фронтальные срезы черной субстанции толщиной 7 мкм на микротоме-криостате HM 525 («Microm»). Детекцию РКН26-позитивных ММСК проводили в криостатных срезах черной субстанции с использованием микроскопа «Altami LUM-1» («Альтами»). Количество флюоресцентных частиц на единицу площади среза головного мозга оценивали с использованием программного обеспечения «Aperio ImageScope v.9.0.1.1506» не менее чем в 10 полях зрения при увеличении объектива 40 и выражали в условных единицах.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета «Statistica 8.0». Полученные данные представлены как медиана с интерквартильным интервалом (25–75-й процентиля). Сравнение результатов двух групп и определение статистической значимости различий осуществляли при помощи непараметрических критериев Вилкоксона и U теста Манна–Уитни. Различия признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

ММСК выявлялись в срезах головного мозга крыс как при системном (внутривенном), так и при локальном (интраназальном и интратекальном) введениях (рис. 5). Для количественной оценки миграционного потенциала клеточных культур использовали анализ с учетом флюоресцентных частиц (РКН26-позитивных ММСК) на единицу

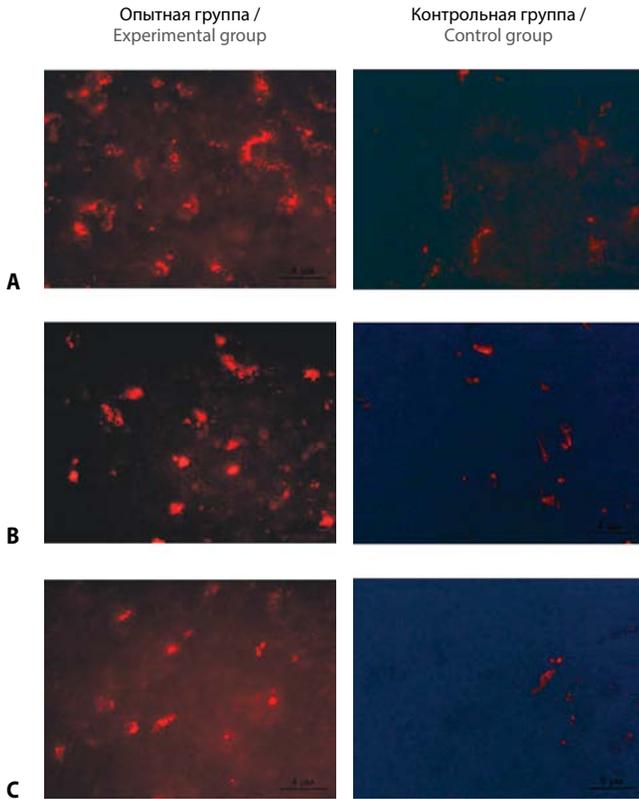


Рис. 5. Локализация ММСК в компактной части черной субстанции после системного (А), интраназального (В) и интратекального (С) введения крысам опытной и контрольной групп, ув. 400

Fig. 5. MMSC localization in the compact part of the substantia nigra after systemic (A), intranasal (B) and intrathecal (C) administration in rats in the experimental and control groups, magnification $\times 400$

площади среза головного мозга (табл. 1). У животных контрольной группы при интратекальном и интраназальном введении установлено статистически значимое увеличение интенсивности мигрировавших в головной мозг клеток по сравнению с внутривенным введением. У животных с экспериментальной моделью паркинсонизма статистически значимых изменений интенсивности свечения ММСК, введенных различными способами, не выявлено.

Таблица 1. Сравнительный анализ количества флуоресцентных частиц на единицу площади среза головного мозга (усл. ед.) у лабораторных крыс через 1 сут после системной и локальной инфузии ММСК (медиана; 25–75-й процентиля)

Table 1. Comparative analysis of the number of fluorescent particles per unit area of the brain slice (conventional units) in laboratory rats, 1 day after systemic and local infusion of MMSC (median; 25–75th percentile)

Группа / Group	Способ введения / Route of infusion			P
	внутривенно / intravenously (1)	интраназально / intranasally (2)	интратекально / intrathecally (3)	
n	13	21	25	
Контрольная / Control	0,0010 (0,0004–0,00016)	0,0072 (0,0034–0,0141)	0,0060 (0,0028–0,0139)	$p_{1-2}=0,00007$ $p_{1-3}=0,00005$ $p_{2-3}=0,67$
Опытная / Experimental	0,0131 (0,0098–0,0327)	0,0269 (0,0161–0,0880)	0,0311 (0,0233–0,0696)	$p_{1-2}=0,1$ $p_{1-3}=0,07$ $p_{2-3}=0,62$
p по сравнению с контролем / p compared with control	0,0002	0,0004	0,00003	

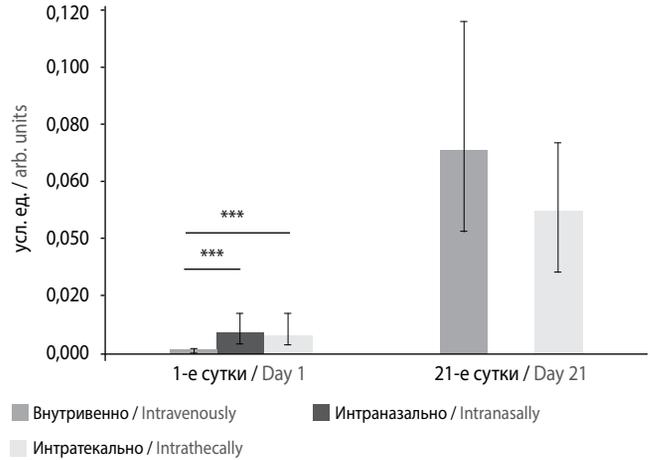


Рис. 6. Динамика количества флуоресцентных частиц на единицу площади среза головного мозга после системного и локального введения ММСК крысам контрольной группы

Fig. 6. Changes in the number of fluorescent particles per unit area of the brain slice after systemic and local administration of MMSC to rats in the control group

При сравнительном анализе способности ММСК мигрировать в головной мозг установлены высокосignификантные различия: интенсивность свечения ММСК, локализованных в компактной части черной субстанции в гистологических образцах крыс с экспериментальной моделью паркинсонизма значительно превышала таковую у крыс контрольной группы (табл. 1). Полученные данные отражают способность ММСК посредством хемокиновых рецепторов мигрировать в очаг воспаления [31], что подтверждает направленность и интенсивность миграции клеточных культур при нейровоспалении.

Известно, что ММСК, подобно лейкоцитам, могут экспрессировать разнообразные рецепторы и молекулы клеточной адгезии, участвующие в хоуминге и миграции в очаг повреждения [32]. Однако существуют принципиальные отличия в хоуминге ММСК после системного или локального введения. Хоуминг ММСК после локальной инфузии в ткани основан на хемотаксическом принципе. При этом клетки активируются, поляризуются, и формируется фронтальное поле, которое способствует интерстициальному

Таблица 2. Динамика количества флуоресцентных частиц на единицу площади среза головного мозга (усл. ед.) у крыс с экспериментальным паркинсонизмом после системной и локальной инфузии ММСК (медиана; 25–75-й процентиля)

Table 2. Changes in the number of fluorescent particles per unit area of the brain slice (conventional units) in rats with experimental Parkinson's disease after systemic and local infusion of MMSC (median; 25–75th percentile)

Сутки после введения ММСК / Day after MMSC infusion	Способ введения / Route of administration			p
	внутривенно / intravenously	интраназально / intranasally	интратекально / intrathecally	
n	1	2	3	
1-е сутки / Day 1	0,0131 (0,0098–0,0327)	0,0269 (0,0161–0,0880)	0,0311 (0,0233–0,0696)	$p_{1-2}=0,1$ $p_{1-3}=0,07$ $p_{2-3}=0,62$
21-е сутки / Day 21	0,0360 (0,0206–0,0450)	0,0575 (0,0305–0,0996)	0,0419 (0,0248–0,0636)	$p_{1-2}=0,02$ $p_{1-3}=0,15$ $p_{2-3}=0,03$
p 1 vs 21 сут / days	0,08	0,12	0,83	

движению в ткани клеток, воспринимающих хемокины, синтезируемые очагом воспаления. При достижении области повреждения миграция клеток прекращается.

При системном введении ММСК проходят несколько этапов: 1) передвижение и роулинг по сосудистому руслу, опосредуемые хемокинами; 2) трансэндотелиальная миграция, в которой принципиальными моментами являются остановка, роулинг и адгезия ММСК в месте экстравазации; 3) собственно интерстициальная миграция к очагу в ткани [33].

Через 21 сут после инфузии ММСК вне зависимости от способа введения число мигрировавших в головной мозг клеток увеличивалось, что подтверждалось усилением интенсивности свечения РКН26-позитивных клеток в гистологических образцах животных исследуемых групп.

У животных контрольной группы к 21-м суткам не выявлено статистически значимых различий между количеством мигрировавших клеток при системном и локальном введении: 0,0711 (0,0425–0,1160) усл. ед. и 0,0506 (0,0287–0,0743) усл. ед. соответственно (рис. 6). При этом отмечено накопление РКН-позитивных ММСК в головном мозге крыс к 21-м суткам по сравнению с 1-ми сутками после инфузии: при системном введении — 0,0711 (0,0425–0,1160) и 0,0010 (0,0004–0,0016) усл. ед. ($p=0,003$); при интратекальном — 0,0506 (0,0287–0,0743) и 0,0060 (0,0028–0,0139) усл. ед. ($p=0,00001$), что подтверждает высокую жизнеспособность и тканевое биораспределение клеточных культур в условиях здорового организма [34].

У животных опытной группы также наблюдалось увеличение количества и, соответственно, интенсивности свечения РКН-позитивных ММСК к 21-м суткам после введения. При этом регистрировались статистически значимые различия между системным и локальными способами доставки клеточных культур в очаг поражения (табл. 2). Следует

отметить, что при интратекальном введении к 21-м суткам эксперимента количество ММСК в образцах головного мозга крыс контрольной группы соответствовало количеству клеток в гистологических образцах животных с экспериментальным паркинсонизмом: 0,0506 (0,0287–0,0743) и 0,0419 (0,0248–0,0636) усл. ед. соответственно ($p=0,41$).

При внутривенном введении интенсивность свечения в образцах мозга крыс опытной группы была статистически значимо снижена по сравнению с крысами контрольной группы ($p=0,0001$), что может быть связано с миграцией ММСК во вторичные лимфоидные органы (селезенка, лимфоузлы) для реализации иммуномодулирующего эффекта и во внутренние органы (легкие, сердце, печень и др.) при создании экспериментальной модели, вызванной ротеноном [21, 35–37].

Таким образом, миграционная способность ММСК как при системном, так и при локальном введении наиболее выражены в группе животных с экспериментальной моделью паркинсонизма с максимальным накоплением клеток в головном мозге в 1-е сутки после введения и сохранением жизнеспособности в участке нейровоспаления на протяжении 21 сут. Локальное введение (интраназальное и интратекальное) приводит к более быстрому накоплению ММСК. Внутривенное введение клеточных культур также способствует проявлению миграционных свойств ММСК и может быть взято за основу при планировании дальнейших исследований клеточной терапии при болезни Паркинсона.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare there is no conflict of interest.

Финансирование. Исследования выполнены в рамках темы ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи», № госрегистрации 20163185.

Funding. The study was performed as part of the 'New Methods of Medical Care' State Scientific and Technical Program, State Registration No. 20163185.

Список литературы

1. Obeso J.A., Stamelou M., Goetz C.G. et al. Past, present, and future of Parkinson's disease: a special essay on the 200th anniversary of the Shaking Palsy. *Mov Disord* 2017; 32: 1264–1310. DOI: 10.1002/mds.27115. PMID: 28887905.
2. Rizke P., Kumar N., Jog M.S. An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *CMAJ* 2016; 188: 1157–1165. DOI: 10.1503/cmaj.151179. PMID: 27221269.
3. AlDakheel A., Kalia L.V., Lang A.E. Pathogenesis-targeted, disease-modifying therapies in Parkinson disease. *Neurotherapeutics* 2014; 11: 6–23. DOI: 10.1007/s13311-013-0218-1. PMID: 24085420.
4. Stocchi F., Olanow C.W. Obstacles to the development of a neuroprotective therapy for Parkinson's disease. *Mov Disord* 2013; 28: 3–7. DOI: 10.1002/mds.25337. PMID: 23390094.
5. Shen Y., Huang J., Liu L. et al. A compendium of preparation and application of stem cells in Parkinson's disease: current status and future prospects. *Front Aging Neurosci* 2016; 8: 117. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00117. PMID: 27303288.
6. Földes A., Kádár K., Kerémi B. et al. Mesenchymal stem cells of dental origin—their potential for anti-inflammatory and regenerative actions in brain and gut damage. *Curr Neuropharmacol* 2016; 14 (8): 914–934. DOI: 10.2174/1570159X14666160121115210. PMID: 26791480.
7. Hasan A., Deeb G., Rahal R. et al. Mesenchymal stem cells in the treatment of traumatic brain injury. *Front Neurol* 2017; 8: 28. DOI: 10.3389/fneur.2017.00028. PMID: 28265255.
8. Shall G., Menosky M., Decker S. et al. Effects of passage number and differentiation protocol on the generation of dopaminergic neurons from rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci* 2018; 19: E720. DOI: 10.3390/ijms19030720. PMID: 29498713.
9. Zhang Z., Alexanian A.R. The neural plasticity of early-passage human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and their modulation with chromatin-modifying agents. *J Tissue Eng Regen Med* 2012; 8: 407–413. DOI: 10.1002/term.1535. PMID: 22674835.
10. Bae K.S., Park J.B., Kim H.S. et al. Neuron-like differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Yonsei Med J* 2011; 52: 401–412. DOI: 10.3349/ymj.2011.52.3.401. PMID: 21488182.
11. Ullah I., Subbarao R.B., Rho G.J. Human mesenchymal stem cells — current trends and future prospective. *Biosci Rep* 2015; 35: e00191. DOI: 10.1042/BSR20150025. PMID: 25797907.
12. Gu Y., Zhang Y., Bi Y. et al. Mesenchymal stem cells suppress neuronal apoptosis and decrease IL-10 release via the TLR2/NFκB pathway in rats with hypoxic-ischemic brain damage. *Mol Brain* 2015; 8: 65. DOI: 10.1186/s13041-015-0157-3. PMID: 26475712.
13. Mesentier-Louro L.A., Zaverucha-do-Valle C., da Silva-Junior A.J. et al. Distribution of mesenchymal stem cells and effects on neuronal survival and axon regeneration after optic nerve crush and cell therapy. *PLoS One* 2014; 9: e110722. DOI: 10.1371/journal.pone.0110722. PMID: 25347773.
14. Perasso L., Cogo C.E., Giunti D. et al. Systemic administration of mesenchymal stem cells increases neuron survival after global cerebral ischemia *in vivo* (2VO). *Neural Plast* 2010; 2010: 534925. DOI: 10.1155/2010/534925. PMID: 21331297.
15. Samsonraj R.M., Raghunath M., Nurcombe V. et al. Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine. *Stem Cells Transl Med* 2017; 6: 2173–2185. DOI: 10.1002/scrm.17-0129. PMID: 29076267.
16. Rohban R., Pieber T.R. Mesenchymal stem and progenitor cells in regeneration: tissue specificity and regenerative potential. *Stem Cells Int* 2017; 2017: 5173732. DOI: 10.1155/2017/5173732. PMID: 28286525.
17. Yan K., Zhang R., Sun C. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells maintain the resting phenotype of microglia and inhibit microglial activation. *PLoS One* 2013; 8: e84116. DOI: 10.1371/journal.pone.0084116. PMID: 24391898.
18. Jose S., Tan S.W., Ooi Y.Y. et al. Mesenchymal stem cells exert anti-proliferative effect on lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia by reducing tumour necrosis factor-α levels. *J Neuroinflammation* 2014; 11: 149. DOI: 10.1186/s12974-014-0149-8. PMID: 25182840.
19. Oh S.H., Kim H.N., Park H.J. et al. Mesenchymal stem cells inhibit transmission of α-synuclein by modulating clathrin-mediated endocytosis in a parkinsonian model. *Cell Rep* 2016; 14: 835–849. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.12.075. PMID: 26776513.
20. Drago D., Cossetti C., Iraci N. et al. The stem cell secretome and its role in brain repair. *Biochimie* 2013; 95: 2271–2285. DOI: 10.1016/j.biochi.2013.06.020. PMID: 23827856.
21. Zafanskaya M.M., Nizheharodava D.B., Yurkevich M.Y. et al. *In vitro* assessment of mesenchymal stem cells immunosuppressive potential in multiple sclerosis patients. *Immunol Lett* 2013; 149: 9–18. DOI: 10.1016/j.imlet.2012.10.010. PMID: 23089549.
22. Coulson-Thomas V.J., Coulson-Thomas Y.M., Gesteira T.F., Kao W.W. Extrinsic and intrinsic mechanisms by which mesenchymal stem cells suppress the immune system. *Ocul Surf* 2016; 14: 121–134. DOI: 10.1016/j.jtos.2015.11.004. PMID: 26804815.
23. Leyendecker A.Jr., Pinheiro C.C.G., Amano M.T., Bueno D.F. The use of human mesenchymal stem cells as therapeutic agents for the *in vivo* treatment of

References

1. Obeso J.A., Stamelou M., Goetz C.G. et al. Past, present, and future of Parkinson's disease: a special essay on the 200th anniversary of the shaking palsy. *Mov Disord* 2017; 32: 1264–1310. DOI: 10.1002/mds.27115. PMID: 28887905.
2. Rizke P., Kumar N., Jog M.S. An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *CMAJ* 2016; 188: 1157–1165. DOI: 10.1503/cmaj.151179. PMID: 27221269.
3. AlDakheel A., Kalia L.V., Lang A.E. Pathogenesis-targeted, disease-modifying therapies in Parkinson disease. *Neurotherapeutics* 2014; 11: 6–23. DOI: 10.1007/s13311-013-0218-1. PMID: 24085420.
4. Stocchi F., Olanow C.W. Obstacles to the development of a neuroprotective therapy for Parkinson's disease. *Mov Disord* 2013; 28: 3–7. DOI: 10.1002/mds.25337. PMID: 23390094.
5. Shen Y., Huang J., Liu L. et al. A compendium of preparation and application of stem cells in Parkinson's disease: current status and future prospects. *Front Aging Neurosci* 2016; 8: 117. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00117. PMID: 27303288.
6. Földes A., Kádár K., Kerémi B. et al. Mesenchymal stem cells of dental origin—their potential for anti-inflammatory and regenerative actions in brain and gut damage. *Curr Neuropharmacol* 2016; 14 (8): 914–934. DOI: 10.2174/1570159X14666160121115210. PMID: 26791480.
7. Hasan A., Deeb G., Rahal R. et al. Mesenchymal stem cells in the treatment of traumatic brain injury. *Front Neurol* 2017; 8: 28. DOI: 10.3389/fneur.2017.00028. PMID: 28265255.
8. Shall G., Menosky M., Decker S. et al. Effects of passage number and differentiation protocol on the generation of dopaminergic neurons from rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci* 2018; 19: E720. DOI: 10.3390/ijms19030720. PMID: 29498713.
9. Zhang Z., Alexanian A.R. The neural plasticity of early-passage human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and their modulation with chromatin-modifying agents. *J Tissue Eng Regen Med* 2012; 8: 407–413. DOI: 10.1002/term.1535. PMID: 22674835.
10. Bae K.S., Park J.B., Kim H.S. et al. Neuron-like differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Yonsei Med J* 2011; 52: 401–412. DOI: 10.3349/ymj.2011.52.3.401. PMID: 21488182.
11. Ullah I., Subbarao R.B., Rho G.J. Human mesenchymal stem cells — current trends and future prospective. *Biosci Rep* 2015; 35: e00191. DOI: 10.1042/BSR20150025. PMID: 25797907.
12. Gu Y., Zhang Y., Bi Y. et al. Mesenchymal stem cells suppress neuronal apoptosis and decrease IL-10 release via the TLR2/NFκB pathway in rats with hypoxic-ischemic brain damage. *Mol Brain* 2015; 8: 65. DOI: 10.1186/s13041-015-0157-3. PMID: 26475712.
13. Mesentier-Louro L.A., Zaverucha-do-Valle C., da Silva-Junior A.J. et al. Distribution of mesenchymal stem cells and effects on neuronal survival and axon regeneration after optic nerve crush and cell therapy. *PLoS One* 2014; 9: e110722. DOI: 10.1371/journal.pone.0110722. PMID: 25347773.
14. Perasso L., Cogo C.E., Giunti D. et al. Systemic administration of mesenchymal stem cells increases neuron survival after global cerebral ischemia *in vivo* (2VO). *Neural Plast* 2010; 2010: 534925. DOI: 10.1155/2010/534925. PMID: 21331297.
15. Samsonraj R.M., Raghunath M., Nurcombe V. et al. Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine. *Stem Cells Transl Med* 2017; 6: 2173–2185. DOI: 10.1002/scrm.17-0129. PMID: 29076267.
16. Rohban R., Pieber T.R. Mesenchymal stem and progenitor cells in regeneration: tissue specificity and regenerative potential. *Stem Cells Int* 2017; 2017: 5173732. DOI: 10.1155/2017/5173732. PMID: 28286525.
17. Yan K., Zhang R., Sun C. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells maintain the resting phenotype of microglia and inhibit microglial activation. *PLoS One* 2013; 8: e84116. DOI: 10.1371/journal.pone.0084116. PMID: 24391898.
18. Jose S., Tan S.W., Ooi Y.Y. et al. Mesenchymal stem cells exert anti-proliferative effect on lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia by reducing tumour necrosis factor-α levels. *J Neuroinflammation* 2014; 11: 149. DOI: 10.1186/s12974-014-0149-8. PMID: 25182840.
19. Oh S.H., Kim H.N., Park H.J. et al. Mesenchymal stem cells inhibit transmission of α-synuclein by modulating clathrin-mediated endocytosis in a parkinsonian model. *Cell Rep* 2016; 14: 835–849. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.12.075. PMID: 26776513.
20. Drago D., Cossetti C., Iraci N. et al. The stem cell secretome and its role in brain repair. *Biochimie* 2013; 95: 2271–2285. DOI: 10.1016/j.biochi.2013.06.020. PMID: 23827856.
21. Zafanskaya M.M., Nizheharodava D.B., Yurkevich M.Y. et al. *In vitro* assessment of mesenchymal stem cells immunosuppressive potential in multiple sclerosis patients. *Immunol Lett* 2013; 149: 9–18. DOI: 10.1016/j.imlet.2012.10.010. PMID: 23089549.
22. Coulson-Thomas V.J., Coulson-Thomas Y.M., Gesteira T.F., Kao W.W. Extrinsic and intrinsic mechanisms by which mesenchymal stem cells suppress the immune system. *Ocul Surf* 2016; 14: 121–134. DOI: 10.1016/j.jtos.2015.11.004. PMID: 26804815.
23. Leyendecker A.Jr., Pinheiro C.C.G., Amano M.T., Bueno D.F. The use of human mesenchymal stem cells as therapeutic agents for the *in vivo* treatment of

immune-related diseases: a systematic review. *Front Immunol* 2018; 9: 2056. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02056. PMID: 30254638.

24. Teixeira F.G., Carvalho M.M., Sousa N., Salgado A.J. Mesenchymal stem cells secretome: a new paradigm for central nervous system regeneration? *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 3871–3882. DOI: 10.1007/s00018-013-1290-8. PMID: 23456256.

25. Koniusz S., Andrzejewska A., Muraca M. et al. Extracellular vesicles in physiology, pathology, and therapy of the immune and central nervous system, with focus on extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells as therapeutic tools. *Front Cell Neurosci* 2016; 10: 109. DOI: 10.3389/fncel.2016.00109. PMID: 27199663.

26. Малиновская Н.А., Гасымлы Э.Д., Баглаева О.В. и др. Экспериментальные ротононовые модели болезни Паркинсона на крысах. *Сборник научных трудов SWorld*. 2012; 43(4): 57–61.

27. Sherer T.B., Betarbet R., Testa C.M. et al. Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2003; 23: 10756–10764. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-34-10756.2003. PMID: 14645467.

28. Samantary S., Knaryan V.H., Guyton M.K. et al. The parkinsonian neurotoxin rotenone activates calpain and caspase-3 leading to motoneuron degeneration in spinal cord of Lewis rats. *Neuroscience* 2007; 146: 741–755. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.01.056. PMID: 17367952.

29. Alam M., Schmidt W.J. Rotenone destroys dopaminergic neurons and induces parkinsonian symptoms in rats. *Behav Brain Res* 2002; 136: 317–324. DOI: 10.1016/S0166-4328(02)00180-8. PMID: 12385818.

30. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, 2004: 209 p.

31. Sohni A., Verfaillie C.M. Mesenchymal stem cells migration homing and tracking. *Stem Cells Int* 2013; 2013: 130763. DOI: 10.1155/2013/130763. PMID: 24194766.

32. Honeczarenko M., Le Y., Swierkowski M. et al. Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors. *Stem Cells* 2006; 24: 1030–1041. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0319. PMID: 16253981.

33. Nitzsche F., Müller C., Lukomska B. Concise review: MSC adhesion cascade — insights into homing and transendothelial migration. *Stem Cells* 2017; 35: 1446–1460. DOI: 10.1002/stem.2614. PMID: 28316123.

34. De Becker A., Riet I.V. Homing and migration of mesenchymal stromal cells: how to improve the efficacy of cell therapy? *World J Stem Cells* 2016; 8: 73–87. DOI: 10.4252/wjsc.v8.i3.73. PMID: 27022438.

35. Юркевич М.Ю., Пилотович В.С., Зафранская М.М. и др. Влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на течение острого почечного повреждения (экспериментальное исследование). *Инновационные технологии в медицине* 2016; 4(3–4): 142–153.

36. Hu J., Zhang L., Wang N., Ding R. et al. Mesenchymal stem cells attenuate ischemic acute kidney injury by inducing regulatory T cells through splenocyte interactions. *Kidney Int* 2013; 84: 521–531. DOI:10.1038/ki.2013.114. PMID: 23615497.

37. Zafranskaya M., Nizheharodava D., Yurkevich M. et al. PGE2 contributes to in vitro MSC-mediated inhibition of non-specific and antigen-specific T cell proliferation in MS patients. *Scand J Immunol* 2013; 78: 455–462. DOI: 10.1111/sji.12102. PMID: 23944654.

Поступила 29.10.2018
Accepted 04.03.2019

immune-related diseases: a systematic review. *Front Immunol* 2018; 9: 2056. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02056. PMID: 30254638.

24. Teixeira F.G., Carvalho M.M., Sousa N., Salgado A.J. Mesenchymal stem cells secretome: a new paradigm for central nervous system regeneration? *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 3871–3882. DOI: 10.1007/s00018-013-1290-8. PMID: 23456256.

25. Koniusz S., Andrzejewska A., Muraca M. et al. Extracellular vesicles in physiology, pathology, and therapy of the immune and central nervous system, with focus on extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells as therapeutic tools. *Front Cell Neurosci* 2016; 10: 109. DOI: 10.3389/fncel.2016.00109. PMID: 27199663.

26. Malinovskaya N.A., Gasymly E.D., Baglaeva O.V. et al. [Experimental rotenone models of Parkinson disease in rats]. *Sbornik nauchnykh trudov SWorld* 2012; 43: 57–61. (In Russ.)

27. Sherer T.B., Betarbet R., Testa C.M. et al. Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2003; 23: 10756–10764. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-34-10756.2003. PMID: 14645467.

28. Samantary S., Knaryan V.H., Guyton M.K. et al. The parkinsonian neurotoxin rotenone activates calpain and caspase-3 leading to motoneuron degeneration in spinal cord of Lewis rats. *Neuroscience* 2007; 146: 741–755. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.01.056. PMID: 17367952.

29. Alam M., Schmidt W.J. Rotenone destroys dopaminergic neurons and induces parkinsonian symptoms in rats. *Behav Brain Res* 2002; 136: 317–324. DOI: 10.1016/S0166-4328(02)00180-8. PMID: 12385818.30. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, 2004: 209 p.

31. Sohni A., Verfaillie C.M. Mesenchymal stem cells migration homing and tracking. *Stem Cells Int* 2013; 2013: 130763. DOI: 10.1155/2013/130763. PMID: 24194766.

32. Honeczarenko M., Le Y., Swierkowski M. et al. Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors. *Stem Cells* 2006; 24: 1030–1041. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0319. PMID: 16253981.

33. Nitzsche F., Müller C., Lukomska B. Concise review: MSC adhesion cascade — insights into homing and transendothelial migration. *Stem Cells* 2017; 35: 1446–1460. DOI: 10.1002/stem.2614. PMID: 28316123.34. De Becker A., Riet I.V. Homing and migration of mesenchymal stromal cells: how to improve the efficacy of cell therapy? *World J Stem Cells* 2016; 8: 73–87. DOI: 10.4252/wjsc.v8.i3.73. PMID: 27022438.

35. Yurkevich M.Yu., Pilotovich V.S., Zafranskaya M.M. et al. [Influence of multipotent mesenchymal stromal cells on acute renal failure course (experimental study)]. *Innovatsionnye tekhnologii v meditsine* 2016; 4(3–4): 142–153. (In Russ.)

36. Hu J., Zhang L., Wang N., Ding R. et al. Mesenchymal stem cells attenuate ischemic acute kidney injury by inducing regulatory T cells through splenocyte interactions. *Kidney Int* 2013; 84: 521–531. DOI:10.1038/ki.2013.114. PMID: 23615497.

37. Zafranskaya M., Nizheharodava D., Yurkevich M. et al. PGE2 contributes to in vitro MSC-mediated inhibition of non-specific and antigen-specific T cell proliferation in MS patients. *Scand J Immunol* 2013; 78: 455–462. DOI: 10.1111/sji.12102. PMID: 23944654.

Received 29.10.2018
Accepted 04.03.2019

Информация об авторах: Зафранская Марина Михайловна — д.м.н., доцент, г.н.с. отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории БелМАПО; зав. каф. иммунологии и экологической эпидемиологии МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь;

Нижегородова Дарья Борисовна — к.б.н., доц., рук. отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории БелМАПО; доц. каф. иммунологии и экологической эпидемиологии МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь;

Алейникова Наталья Евгеньевна — асп. каф. неврологии и нейрохирургии БелМАПО, Минск, Республика Беларусь;

Кузнецова Татьяна Евгеньевна — к.б.н., в.н.с. центра электронной и световой микроскопии Института физиологии НАН Беларуси; доц. каф. экологической медицины и радиобиологии МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь;

Ванслав Маргарита Ивановна — м.н.с. отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории БелМАПО, Минск, Республика Беларусь;

Игнатович Татьяна Викторовна — м.н.с. отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории БелМАПО, Минск, Республика Беларусь;

Бойко Александр Васильевич — к.м.н., доц. каф. неврологии и нейрохирургии БелМАПО, Минск, Республика Беларусь;

Пономарев Владимир Владимирович — д.м.н., проф., зав. каф. неврологии и нейрохирургии БелМАПО, Минск, Республика Беларусь

Information about the authors: Marina M. Zafranskaya, D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., principal researcher, Immunology and biomedical technology department, Scientific and research laboratory, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education; Head of Immunology and ecological epidemiology department, International Sakharov Environmental Institute of the Belarusian State University, Minsk, Belarus;

Darya B. Nizhegorodova, PhD (Biol.), Assoc. Prof., Head of Immunology and biomedical technology department, Scientific and Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education; Assoc. Prof., Immunology and ecological epidemiology department, International Sakharov Environmental Institute of the Belarusian State University, Minsk, Belarus;

Natalia E. Aleynikova, PhD student, Neurology and neurosurgery department, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus;

Tatyana E. Kuznetsova, PhD (Biol.), Assoc. Prof., senior researcher, Center of electron and light microscopy, Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus; Assoc. Prof., Medical ecology and radiobiology department, International Sakharov Environmental Institute of the Belarusian State University, Minsk, Belarus;

Margarita I. Vanslav, junior researcher, Immunology and biomedical technology department, Scientific and Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus;

Tatyana V. Ignatovich, junior researcher, Immunology and biomedical technology department, Scientific and Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

Alexander V. Boiko, PhD, Assoc. Prof., Neurology and neurosurgery department, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus.

Vladimir V. Ponomarev, D. Sci. (Med.), Prof., Head of Neurology and neurosurgery department, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus.