

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Лямина С.В.<sup>1,2</sup>, Барановский Д.С.<sup>1,3,4</sup>, Кожевникова Е.О.<sup>1</sup>, Иванова Т.И.<sup>1</sup>, Садеков Т.Ш.<sup>1</sup>, Калиш С.В.<sup>1,2</sup>

## СЕКРЕТОМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК: МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРИ ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ И ИНФЛАМЕЙДЖИНГ-АССОЦИИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, 127006, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФБУН «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Роспотребнадзора, 117246, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, 117198, Москва, Россия;

<sup>4</sup>Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба, 249036, Обнинск, Россия

*Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) оправданно привлекают широкое внимание специалистов в области регенеративной медицины и клеточной терапии из-за способности к самообновлению, многолинейной дифференцировке и иммунной регуляции. Биологические эффекты МСК значительно варьируют при различных физиологических и патологических состояниях и во многом определяются уровнем экспрессии различных регуляторных факторов, участвующих в межклеточной коммуникации и совокупно известных как секретом. Секретом МСК представляет собой динамическую систему - набор факторов, состав которого в значительной степени может изменяться в ответ на изменение клеточного микроокружения и развитие сенесцентных изменений в клетках, что объясняет его значимый биологический эффект и влияние на процесс хронического неспецифического воспаления в окружающих тканях. Учитывая появляющиеся данные о возможности и преимуществах использования секрета МСК с терапевтической целью, важно оценивать его возможные изменения, обусловленные вероятным накоплением сенесцентных клеток, что потенциально способно привести к развитию и усугублению низкоуровневого воспаления. Обзор посвящён анализу методов исследования секрета МСК, оценке его диагностического значения при потенциальном применении секрета как бесклеточного продукта в различных клинических условиях. Поиск литературных источников проводился по базам данных Scopus, Web of Science, MedLine, The Cochrane Library, EMBASE, Global Health, CyberLeninka, РИИЦ.*

**Ключевые слова:** МСК; мезенхимальные стромальные клетки; секретом; инфламейджинг; возраст-зависимые изменения; кондиционированная среда; секреторный фенотип; SASP; обзор

**Для цитирования:** Лямина С.В., Барановский Д.С., Кожевникова Е.О., Иванова Т.И., Садеков Т.Ш., Калиш С.В. Секретом мезенхимальных стромальных клеток: методы исследования и диагностическая значимость при возраст-зависимых изменениях и инфламейджинг-ассоциированных состояниях (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (3): 140-147. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-3-140-147>

**Для корреспонденции:** Лямина Светлана Владимировна, д-р мед. наук, доц., зав. лаб. молекулярной патологии пищеварения научно-исследовательского центра биомедицинских исследований ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; e-mail: [svlvs@mail.ru](mailto:svlvs@mail.ru)

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России в рамках реализации научной тематики научно-исследовательского центра биомедицинских исследований.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 03.10.2023

Принята к печати 17.01.2024

Опубликовано 01.03.2024

*Lyamina S.V.<sup>1,2</sup>, Baranovskiy D.S.<sup>1,3,4</sup>, Kozhevnikova E.O.<sup>1</sup>, Ivanova T.I.<sup>1</sup>, Sadekov T. Sh.<sup>1</sup>, Kalish S.V.<sup>1,2</sup>*

## MESENCHYMAL STROMAL CELLS SECRETOME: RESEARCH METHODS AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE IN AGE-DEPENDENT CHANGES AND INFLAMMAGING-ASSOCIATED CONDITIONS (REVIEW OF LITERATURE)

<sup>1</sup>FSBEI HE "ROSUNIMED" of MOH of Russia, 127006, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Research Institute for Systems Biology and Medicine (RISBM), 1172466, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, 117198, Moscow, Russia;

<sup>4</sup> A. Tsyb Medical Radiological Research Center, 249036, Obninsk, Russia

*Multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) reasonably attract wide attention of specialists in the field of regenerative medicine and cell therapy due to their ability to self-renewal, multilinear differentiation, and immune regulation. MSCs biological effects vary*

significantly under different physiological and pathological conditions and are largely determined by expression of plenty regulatory factors involved in intercellular communication known as secretome and critical for the regulation of key biological processes. Secretome MSC is a dynamic system - a set of factors, the composition of which can largely change in response to changes in the cellular microenvironment, which explains the significant biological effect of the secretome. Modeling the functional properties of MSCs during the development of cell senescence to a certain extent creates conditions for the development and progression of chronic nonspecific inflammation in surrounding tissues, which is due not only to senescent changes in the cells themselves, but also to changes in the cellular microenvironment in the process of accumulation of senescent cells. Given the emerging data on the possibility and benefits of using the MSC secretome for therapeutic purposes, it is extremely important to evaluate its possible changes due to the likely accumulation of senescent cells, which can potentially lead to the development and exacerbation of low-level inflammation. This review is devoted to analysis of methods for studying MSC secretome, as well as their diagnostic value in the potential use of secretome as a cell-free product in various clinical settings. The literature sources search was carried out in the Scopus, Web of Science, MedLine, The Cochrane Library, EMBASE, Global Health, CyberLeninka, RSCI databases.

**Key words:** MSC; mesenchymal stromal cells; secretome; inflammaging; age-dependent changes; conditioned medium; secretory phenotype; SASP; review

**For citation:** Lyamina S.V., Baranovsky D.S., Kozhevnikova E.O., Ivanova T.I., Sadekov T.Sh., Kalish S.V. Mesenchymal stromal cells secretome: research methods and diagnostic significance in age-dependent changes and inflammaging-associated conditions (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (3): 134-140 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620.0869-2084-2024-69-3-134-140>

**For correspondence:** Lyamina S.V., MD, PhD, Doct of Med Sci (Russ), head of the Molecular pathology of digestion laboratory, FSBEI HE "ROSUNIMED" of MOH of Russia; e-mail: [svlvs@mail.ru](mailto:svlvs@mail.ru)

**Information about authors:**

Lyamina S.V., <https://orcid.org/0000-0001-8300-8988>;  
Baranovskii D.S., <https://orcid.org/0000-0002-6154-9959>  
Kozhevnikova E.O., <https://orcid.org/0000-0002-9835-694X>;  
Ivanova T.I., <https://orcid.org/0000-0002-7720-156X>;  
Sadekov T.Sh., <https://orcid.org/0000-0001-5337-0054>;  
Kalish S.V., <https://orcid.org/0000-0002-2781-9396>.

**Acknowledgment.** This study is supported by internal scientific program of FSBEI HE "ROSUNIMED" of MOH of Russia.

**Conflict of interest.** The authors declare absence of conflict of interests.

Received 03.10.2023  
Accepted 17.01.2024  
Published 01.03.2024

**Введение.** В последние десятилетия ожидаемая продолжительность жизни во всем мире существенно возросла, что обуславливает актуальность методов ранней диагностики и коррекции возраст-зависимых состояний и хронических заболеваний [1].

Повышенное внимание сегодня уделяется изучению клеточных и молекулярных аспектов старения, в особенности, проблемам инфламейджинга - хронического асептического неспецифического воспаления, ассоциированного с возрастом. Предполагается, что инфламейджинг является следствием активации врождённого иммунитета и снижения адаптивного иммунитета без экзогенных стимулов. В качестве одного из ключевых драйверов инфламейджинга сегодня рассматривают изменения экстраклеточного матрикса, в том числе, связанного с формированием особого секреторного профиля, специфичного для старения (SASP) [2]. Данная гипотеза подтверждается общностью ряда патогенетических звеньев воспалительного процесса при возраст-ассоциированных заболеваниях [3,4]. Несмотря на подтверждённые комплексные изменения в «хрупких» сенесцентных клетках на молекулярном и морфологическом уровне, в том числе, укорочение теломер, накопление оксида азота (NO) и активных форм кислорода (АФК), изменение формы и увеличение размера клеток, активное образование клеточного дебриса, их идентификация продолжает оставаться сложной задачей, поскольку в настоящее время ни один из определённых маркёров сенесцентности не является сугубо специфичным для старения [5].

В последние десятилетия существенное внимание учёных и клиницистов в регуляции процессов хронического неспецифического воспаления сфокусировано на исследовании участия мезенхимальных стромальных/стволовых клеток (МСК), регулирующих работу иммунной системы как паракринным способом, так и прямым взаимодействием через межклеточные контакты [6, 7]. По аналогии с иными клетками организма, МСК имеют ограниченный пролиферативный потенциал и подвержены старению, в качестве одного из элементов которого сегодня рассматривается переход клеток к состоянию сенесцентности или «клеточной хрупкости». При культивировании МСК, выделенных из любого источника, продукт их секреции - секретом с везикулярными элементами клеточного происхождения, попадает в состав регенеративной кондиционированной среды (КС) и после выделения может являться предметом тщательного анализа. Исследованию секретом, как диагностического маркёра патологических и ассоциированных с клеточным сенесценсом состояний, уделяется неоправданно мало внимания. Изучение особенностей клеточного секретом обладает рядом существенных преимуществ по сравнению с исследованием самих клеток, представляя информативный источник данных как о состоянии МСК, так и их донора.

В обзоре рассмотрены методы выделения и исследования компонентов секретом, его специфические признаки, которые могут иметь диагностическое значение для заболеваний, ассоциированных с возрастом.

**Секретом МСК: состав и основные свойства.**

Для поддержания своей клеточной ниши МСК конститутивно выделяют во внеклеточное пространство сложный коктейль хемокинов, факторов роста, про- и противовоспалительных цитокинов, известный как секретом [8]. В исследованиях F.J. Vizoso и соавт. [8], L. Beer и соавт. [9] подтверждено многообразие состава секретом (рис. 1). Так, секретом МСК содержит в своем составе растворимые белки, свободные нуклеиновые кислоты, липиды, внеклеточные везикулы. Последние могут быть подразделены на экзосомы, микро-везикулы, апоптотические тельца, классифицируемые на основе их размера и биогенеза [10].

Воздействие МСК на клетки иммунной системы обусловлено, прежде всего, их составом (рис. 1), паракринными эффектами секретом и его иммуномодули-

рующим и регенераторным действием (рис. 2) [6-8].

Секретом отдельных МСК в различных тканях специфичен и изменяется в ответ на колебания физиологических состояний ткани и клетки, с возрастом и при наличии патологических изменений. Возраст донора клеток оказывает определяющее влияние на секреторный профиль его МСК. Исчерпание пролиферативного потенциала МСК с переходом в состояние сенесцентности почти всегда сопровождается изменением секретом, особенно в отношении микроРНК (миРНК). МиРНК стали предметом пристального внимания в связи с их ролью в различных возраст-ассоциированных заболеваниях, что обусловлено различным профилем экспрессии при переходе клеток в сенесцентное состояние и при развитии старения.

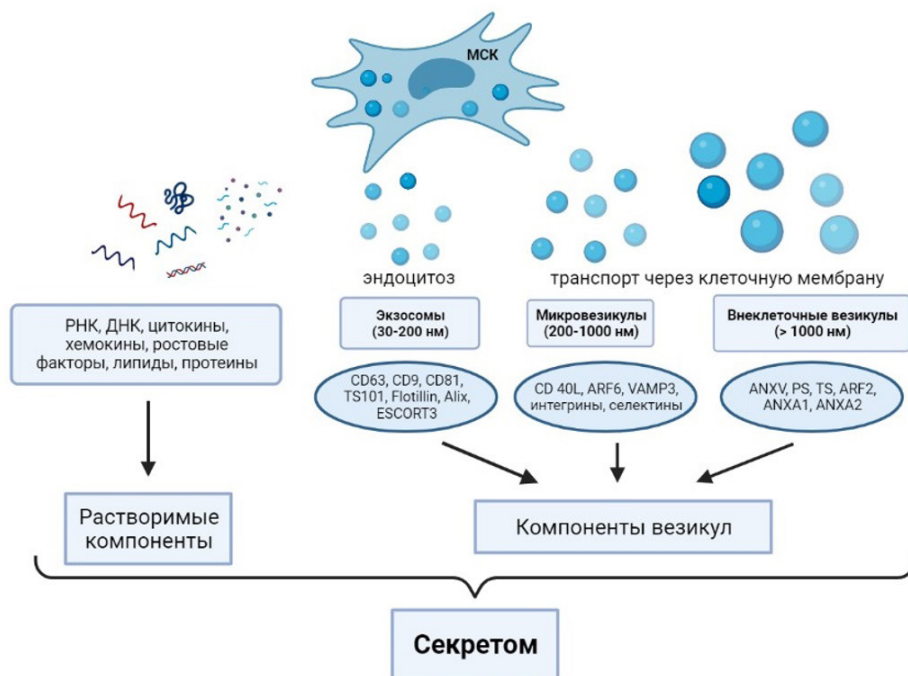


Рис. 1. Состав секретом.

CD - кластер дифференцировки, TS101 - фактор восприимчивости к опухоли 101, TS - тромбоспондин, Flotillin - флотилин, Alix - белок, взаимодействующий с b программируемой гибелью клеток, ESCORT3 - эндосомальный сортировочный комплекс, необходимый для транспорта-3, ARF6 - фактор АДФ - рибозилирования, VAMP3 - ассоциированный с везикулами мембранный белок 3, ANX - аннексин V, PS - фосфатидилсерин [8].

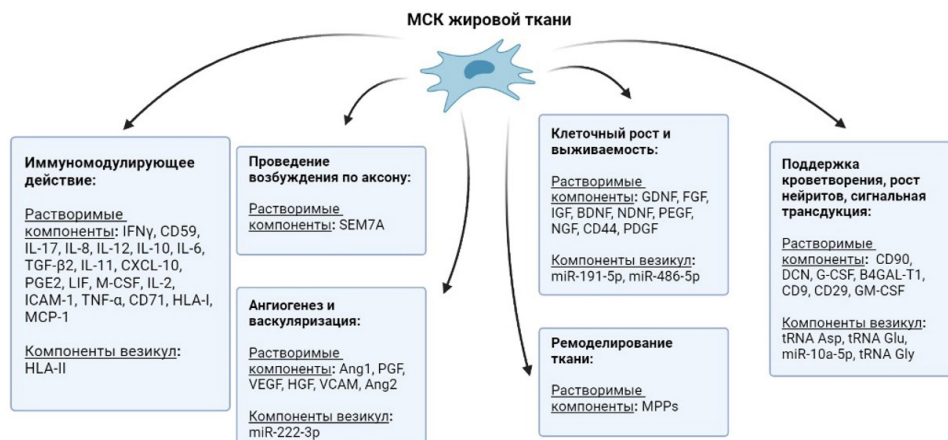


Рис. 2. Плейотропные эффекты МСК на примере клеток, происходящих из жировой ткани.

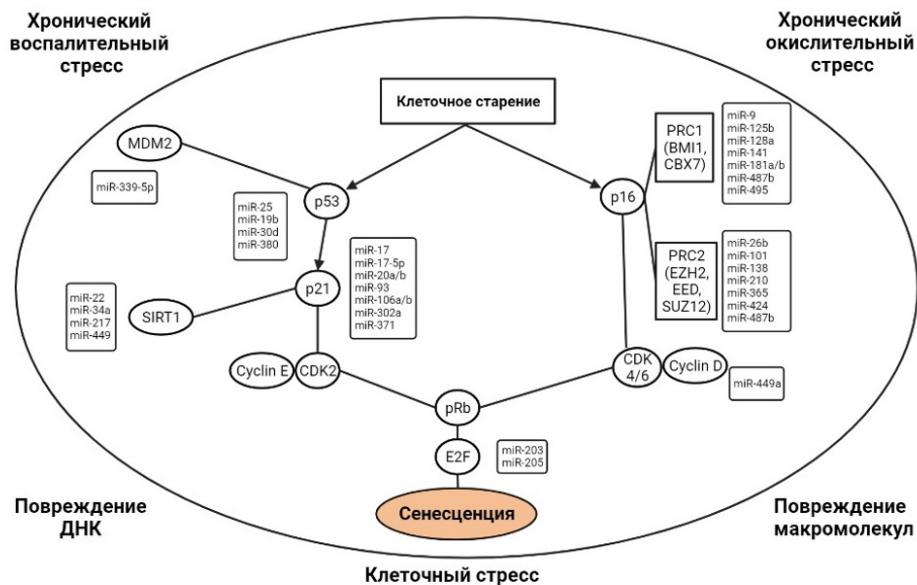


Рис. 3. Медиаторы миРНК в регуляции сенесценса - внутриклеточные пути p53 и p16INK4a.

miR - микроРНК, MDM2 - белок, E3 убиквитинпротеинлигаза, SIRT1 - сиртуин 1, деацетилаза сиртуин-1 зависимая от НАД, Cyclin - циклин, CDK - циклин-зависимая киназа, pRb - белок ретинобластомы, PRC - семейство белков, способных ремоделировать хроматин, BMI1 - комплексный белок семейства белков, способных ремоделировать хроматин, CBX - семейство белков хромобокс, EZH2 - фермент гистон-лизин-N-метилтрансфераза, EED - член семейства белков, которые способны ремоделировать хроматин, кодируемый геном EED, SUZ - член семейства белков, которые способны ремоделировать хроматин, кодируемый геном SUZ [9].

Особенности экспрессии микроРНК позволяют определять как модулирующие сенесценс, так и коррелирующие с ним миРНК, ингибирующие ключевые белки в путях сенесценса (рис. 3).

Для ассоциированного со старением секреторного фенотипа (SASP) свойственно более высокое содержание внеклеточных везикул (ЭВ) и уменьшение их размера [10]. Наиболее значимым отличием от секреторного фенотипа без сенесцентных изменений является измененный баланс цитокинов, смещающийся в сторону провоспалительного фенотипа [3]. Результатом постоянного выброса SASP становится инфламейджинг - хроническое субклиническое воспалительное состояние тканей, развивающееся асептически без экзогенных стимулов. Характер взаимосвязи между инфламейджингом и отдельными заболеваниями в настоящее время является предметом активного изучения [2, 11].

**Методы исследования секрета.** При анализе секрета культивированных клеток большое значение имеет состав питательной среды: культивация клеток млекопитающих требует присутствия в среде белковых или сывороточных добавок, что может изменить состав идентифицируемого секрета и значительно усложнить диагностическую задачу. Это было продемонстрировано в работах S. Nonnis и соавт. [12], что позволяет говорить о целесообразности перевода клеток млекопитающих на 12-18 часов на бессывороточную среду перед выполнением анализа, после чего сбор кондиционированной среды для анализа может быть проведен.

Спектр методов исследования секрета различных клеток значителен (см. таблицу).

**Методы выделения компонентов секрета.** Се-

кретом культивируемых МСК *in vitro* может быть получен в составе кондиционированной среды (КС). Центрифугированная КС содержит обе фракции секрета, полученного из МСК - микровезикулы и растворимые компоненты [20]. Растворимые компоненты могут быть отделены дальнейшим ультрацентрифугированием, фильтрацией, методами, основанными на осаждении полимеров, ионообменной хроматографией и размер-экслюзионной хроматографией [21].

Согласно последним исследованиям О.Р.В. Wiklander и соавт. [22], всё больше внимания уделяется именно выделению фракции внеклеточных везикул, поскольку считается, что в них концентрируется большое количество биоактивных веществ.

Методом золотого стандарта для выделения экстракционных везикул является ультрацентрифугирование [23]. Описанные протоколы выделения рекомендуют серию центрифугирования КС для удаления остатков клеток с последующим ультрацентрифугированием для получения гранул ЭВ [24]. Ультрацентрифугирование - трудоёмкий метод, он сопряжён с риском нарушения целостности микровезикул [25]. Так, в работе M. Monguió-Tortajada и соавт. [26] показано, что во время центрифугирования КС могут осесть растворимые факторы секрета. Низкое восстановление ЭВ и риск совместного осаждения неvesicular примесей из макромолекул являются ограничивающими факторами применения метода за счёт возможного нарушения целостности внеклеточных везикул. Может наблюдаться их агрегация из-за высоких гравитационных сил с гранулированием очень существенной части растворенных белков.

Одним из популярных методов выделения компо-



нентов секрета является метод выделения на основе размера. Метод основан на использовании ультрафильтративных устройств, систем фильтрации тангенциальным потоком и размер-эксклюзионной хроматографии

[26, 27]. Недостатком метода выделения на основе размера является совпадение в размерах внеклеточных везикул, генерируемых различными биогенными механизмами.

#### Методы исследования секрета

Метод	Преимущества	Недостатки	Авторы
SAGE – сериальный анализ экспрессии генов	Прямой, количественный, возможность анализа как известных, так и неизвестных последовательностей	Трудоёмкий; возможность наличия вырожденных меток (одной метке может соответствовать много генов, одному гену - много меток (с учётом альтернативного сплайсинга)); зависимость от наличия и положения сайтов рестрикции	[12]
ДНК-микрочипы	Высокопроизводительный, экономически выгодный, возможность анализа образцов из двух разных тканей	Более низкий динамический диапазон, маленькое покрытие, невозможность исследования транскриптомов, представленных в малом количестве, и тех, что не подвержены дифференциальной экспрессии	[13]
Белковые микрочипы	Возможность анализа белков, представленных в малом количестве; воспроизводимость результатов	Себестоимость; доступность антител; склонность белков секрета к быстрой денатурации	[14, 15]
Жидкостная хроматография и тандемная масс-спектрометрия	Гель-зависимые методы: возможность анализа неизвестных белков, высокая разрешающая способность. Гель-независимые методы: возможность анализа белков низких концентраций, высокая производительность, воспроизводимость	Гель-зависимые методы: низкопроизводительны, плохо воспроизводимы, имеют низкий динамический диапазон. Гель-независимые методы: ряд подходов позволяет работать только с определёнными белками	[16]
Методы <i>in silico</i>	Предсказание секреторных белков с сигнальными пептидами и без них	Отсутствие возможности экспериментальной проверки, вследствие чего могут быть пропущены белки, в которых отсутствует сигнальный пептид, и часто встречаются ложноположительные и ложноотрицательные результаты	[17]
РНК-секвенирование	Возможность анализа неизвестных заранее последовательностей	Многоэтапность, возможность потери последовательностей в ходе анализа	[18]
Методы с применением аптамеров	Аптамеры химически стабильны, экономичны, могут производиться в больших масштабах, обладают промежуточным размером (между антителами и небольшими пептидами) и имеют сопоставимую или более высокую аффинность связывания со своими мишенями; надёжная идентификация клетки-мишени на молекулярном уровне в сочетании с различными инструментами анализа, такими как активируемая флуоресценцией сортировка клеток или иммуноферментный анализ		[19]

Хроматография методом слепого элюирования, применявшаяся в работах F. Rojo и соавт. [25], продемонстрировала хорошие результаты в очистке внеклеточных везикул в сочетании с предварительной фильтрацией с помощью устройств системы фильтрации тангенциальным потоком.

Для выделения экстраклеточных везикул также широко используются коммерческие комплекты быстрой изоляции [25]. Все они основаны на выделении методом преципитации. Несмотря на удобство использования, чистота выделения часто остается довольно низкой, и при совместном осаждении невезикулярных белковых и нуклеиновых кислотных примесей, последние могут исказить данные в результатах содержания и функций ЭВ [24].

К менее используемым методам относят захват, основанный на аффинности [23].

K. Pachler K. и соавт. [28] предложен метод магнитной изоляции экстраклеточных везикул с использова-

нием нанозондов на основе липидов, что позволяет получать интактные, более чистые ЭВ, за гораздо более короткие сроки по сравнению с ультрацентрифугированием. Для выделения более мелких внеклеточных везикул и высокопроизводительного скрининга (например, образцов жидкости организма для диагностики) сегодня рекомендованы несколько различных микрофлюидных методов, называемых лабораторными устройствами на чипе, включая диэлектрофорез, иммуноаффинные, гидродинамические и магнитные методы.

В лабораторной практике методы ультрацентрифугирования и исключения размера часто комбинируются, поскольку ультрацентрифугирование позволяет изолировать везикулы и использовать методы исключения размера для их очистки.

Выделение внеклеточных везикул следует проводить в определённых условиях среды, без ксеногенных веществ и везикул, полученных из сыворотки, которые, в противном случае, имеют высокий риск загрязнения

выделенного образца [29].

Несмотря на достигнутые успехи, продолжается поиск новых методов выделения, которые обеспечивают высокий выход, сохраняют характеристики полученных продуктов, не являются чрезмерно дорогостоящими, могут быть масштабируемы.

**Диагностическое значение секрета.** Анализ секрета МСК можно рассматривать в качестве чрезвычайно информативного источника для получения дополнительной информации и оценки состояния здоровья его донора [30, 31]. Секретом меняет свой состав и приобретает специфические черты в зависимости от возраста и наличия тех или иных заболеваний. Так, в работах P. Sarkar и соавт. [13], секретом, полученный от МСК доноров с рассеянным склерозом, обладал менее выраженным нейропротекторным эффектом по сравнению со здоровыми пациентами, нейропротекторный эффект снижался с увеличением возраста донора. В исследованиях N. Matejckova и соавт. [32 - 34] продемонстрировано, что секретом МСК пациентов с боковым амиотрофическим склерозом также отличали характерные изменения в виде повышенного содержания интерлейкина-6 (IL-6), и снижения содержания фактора роста гепатоцитов.

Существенное влияние на состав секрета оказывает окружающая среда, в которой находятся МСК [35]. L.J. Hickson и соавт. [35] показали, что гипоксическое преколондирование связано с повышенной выработкой клетками факторов роста, включая фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста фибробластов 2 (FGF-2), фактор роста гепатоцитов (HGF) и инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1). Показано, что воздействие воспалительных стимулов, таких как интерлейкин 1-бета (IL-1 $\beta$ ), фактор некроза опухоли - альфа (TNF- $\alpha$ ) или интерферон-гамма (IFN- $\gamma$ ), инициирует выработку иммуномодулирующих факторов. К ним относятся гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), фактор H, который ингибирует активацию комплемента, и галектин-9, подавляющий пролиферацию T-клеток. Кроме того, значительный интерес представляет и способ культивирования клеток. A.D. Morris и соавт. [36] показали, что 3D-культивирование МСК ассоциировано с индуцированной секрецией различных потенциально терапевтических факторов по сравнению с двумерной (2D) культурой, включая G-CSF, VEGF, антагонист рецептора IL-1 (IL-1Ra) или FGF-1. Предварительное воздействие на выделенные из жировой ткани МСК фактором TNF- $\alpha$  усиливало эффективность экзосом в отношении потенциала регенерации костной ткани. Модели на мышцах *in vivo* показали возможность ускоренного заживления кожных ран после применения секрета МСК, подвергавшихся гипоксическому преколондированию, в сравнении с секретом МСК, полученным в нормоксических условиях [37].

В работах J.R. Ferreira и соавт. [38] *in vitro* показано, что изменение pH культуральной среды способно изменять функциональный фенотип МСК за счёт изменения метаболизма клеток, что влияет на состав секрета и его терапевтический эффект [38].

Эпигенетические модификации МСК (например, вирусные инфекции донора) также способны значимо влиять на состав МСК-секрета, и, таким образом,

как МСК, так и МСК-секретом могут способствовать развитию, поддержанию и прогрессированию воспалительных заболеваний [39].

Изменчивость, вносимая донором или источником клеток, может существенно осложнять возможность применения МСК, в результате растёт интерес к их замене иммортализованными клеточными линиями [39]. Согласно последним исследованиям Z. Lu и соавт. [40], секретом, полученный из иммортализованных МСК, не изменяется в зависимости от источника ткани или прохождения клеток. Для получения значимого количества секрета необходима большая клеточная масса, что делает иммортализованные МСК ещё более привлекательным ресурсом, учитывая относительно низкую стоимость и доступность продолжительного поддержания культуры клеток.

Особый интерес вызывают вопросы возможности применения секрета МСК в терапевтических целях. В ряде исследований продемонстрирован положительный эффект применения секрета МСК для лечения таких иммуноопосредованных состояний, как воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), остеоартроз, реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ), гиперчувствительный пневмонит. Тем не менее, отсутствует единая точка зрения в отношении подходов оптимизации содержимого секрета, что является обязательным для достижения адаптируемой терапии с широким спектром применения. Этот факт, в связи с недостаточно проработанными алгоритмами диагностики, ограничивает возможности широкого клинического применения секрета МСК. Данное направление активно изучается на экспериментальных моделях и в исследованиях доклинического этапа по поиску оптимальных источников секрета с лучшим терапевтическим профилем в отношении различных заболеваний, в том числе, иммуноопосредованных, а также в составлении рациональных алгоритмов диагностических исследований секрета из интересующих источников [40].

**Заключение.** МСК всё чаще рассматриваются не только как клетки, дающие широкие возможности в плане регенеративной медицины, но и как своеобразный диагностический инструмент. МСК, выступающие в роли сенсоров и регуляторов иммунной системы, в равной степени способны как сдерживать, так и стимулировать воспалительные реакции в организме человека. Учитывая, что анализ секрета МСК сегодня можно рассматривать в качестве чрезвычайно информативного дополнительного диагностического инструмента для получения расширенной информации об оценке состояния здоровья донора, особое внимание в настоящее время уделяется именно оптимальным способам анализа состава секрета клеток и способам влияния на состав секрета. В обзоре показано, что особенности доноров МСК в значительной степени определяют как функциональные характеристики самих клеток, так и их производных, которые всё чаще рассматриваются в качестве альтернативного варианта клеточной терапии. МСК секретом при равной биосовместимости характеризуется меньшей иммуногенностью, но оказывает сходное биологическое действие, что делает его практически идеальным вариантом бесклеточной терапии. Современные омиксные технологии и возмож-

ность модуляции состава секретомы для применения в клинической практике позволяет рассматривать его как часть потенциальной системы доставки в рамках наномедицины, что может являться инструментом прецизионного воздействия на клетки или ткани с измененной эффективностью. Особенности клеточного секретомы могут стать предметом тщательного анализа и положены в основу разработки диагностических панелей для возраст-ассоциированных заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Fraile M., Eiro N., Costa L.A., Martín A., Vizoso F.J. Aging and mesenchymal stem cells: basic concepts, challenges and strategies. *Biology (Basel)*. 2022; 11(11):1678. DOI: 10.3390/biology11111678.
- Ahangar P., Mills S.J., Cowin A.J. Mesenchymal stem cell secretome as an emerging cell-free alternative for impoting wound repair. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21:7038. DOI: 10.3390/ijms21197038
- Lyamina S., Baranovskii D., Kozhevnikova E., Ivanova T., Kalish S., Sadokov T., Klabukov I., Maev I., Govorun V. Mesenchymal stromal cells as a driver of inflammation. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(7):6372. DOI: 10.3390/ijms24076372.
- Schulman I.H., Balkan W., Hare J.M. Mesenchymal stem cell therapy for aging frailty. *Front. Nutr.* 2018; 15; 5:108. DOI: 10.3389/fnut.2018.00108.
- Sharpless N.E., Sherr C.J. Forging a signature of *in vivo* senescence. *Nat. Rev. Cancer.* 2015; 15(7):397-408. DOI: 10.1038/nrc3960.
- Mushahary D., Spittler A., Kasper C., Weber V., Charwat V. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytom. Part A*. 2018; 93:19-31. DOI: 10.1002/cyto.a.23242.
- Krasilnikova O.A., Baranovskii D.S., Lyundup A.V., Shegay P.V., Kaprin A.D., Klabukov I. D. Stem and somatic cell monotherapy for the treatment of diabetic foot ulcers: review of clinical studies and mechanisms of action. *Stem. Cell Reviews and Reports*. 2022; 18(6):1974-85. DOI: 10.1007/s.12015-022-10379-z.
- Vizoso F.J., Eiro N., Cid S., Schneider J., Perez-Fernandez R. Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(9):1852. DOI: 10.3390/ijms18091852.
- Beer L., Mildner M., Ankersmit H.J. Cell secretome based drug substances in regenerative medicine: when regulatory affairs meet basic science. *Ann. Transl. Med.* 2017; 5:170. DOI: 10.21037/atm.2017.03.50.
- Neri S., Borzi R.M. Molecular Mechanisms Contributing to Mesenchymal Stromal Cell Aging. *Biomolecules*. 2020; 10:340. DOI: 10.3390/biom10020340.
- Li Y., Sheng Q., Zhang C., Han C., Bai H., Lai P., Fan Y., Ding Y., Dou X. STAT6 up-regulation amplifies M2 macrophage anti-inflammatory capacity through mesenchymal stem cells. *Int. Immunopharmacol.* 2021; 91:107266. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107266.
- Nonnis S., Maffioli E., Zanotti L., Santagata F., Negri A., Viola A., Elliman S., Tedeschi G. Effect of fetal bovine serum in culture media on MS analysis of mesenchymal stromal cells secretome. *EuPA Open Proteomics*. 2016; 10:28-30. DOI: 10.1016/j.euprot.2016.01.005.
- Sarkar P., Randall S.M., Muddiman D.C., Rao B.M. Targeted proteomics of the secretory pathway reveals the secretome of mouse embryonic fibroblasts and human embryonic stem cells. *Mol. Cell Proteomics*. 2012; 11(12):1829-39. DOI: 10.1074/mcp.M112.020503.
- Li Y.J., Xu P., Qin X. A comparative analysis of the information content in long and short SAGE libraries. *BMC Bioinformatics*. 2006; 7:504. DOI: 10.1186/1471-2105-7-504.
- Malone J.H., Oliver B. Microarrays, deep sequencing and the true measure of the transcriptome. *BMC Biol.* 2011; 9:34. DOI: 10.1186/1741-7007-9-34.
- Gallotta A., Orzes E., Fassina G. Biomarkers quantification with antibody arrays in cancer early detection. *Clin. Lab. Med.* 2012; 32(1):33-45. DOI: 10.1016/j.cll.2011.11.001.
- Mukherjee P., Mani S. Methodologies to decipher the cell secretome. *Biochim. Biophys. Acta*. 2013; 1834(11):2226-32. DOI: 10.1016/j.bbapap.2013.01.022.
- Lee S., Kang J., Ren S., Laurell T., Kim S., Jeong O.C. A cross-contamination-free SELEX platform for a multi-target selection strategy. *Biochip. J.* 2013; 7:38-45. DOI: 10.1007/s13206-013-7106-y.
- Shangguan, D., Li, Y., Tang Z.W., Cao Z.H.C., Chen H.W., Mallikaratchy P., Sefah K., Yang C.Y.J., Tan W.H. Aptamers evolved from live cells as effective molecular probes for cancer study. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103:11838-43. DOI: 10.1073/pnas0602615103.
- Munoz-Perez E., Gonzalez-Pujana A., Igartua M., Santos-Vizcaino E., Hernandez R.M. Mesenchymal Stromal Cell Secretome for the Treatment of Immune-Mediated Inflammatory Diseases: Latest Trends in Isolation, Content Optimization and Delivery Avenues. *Pharmaceutics*. 2021; 13(11):1802. DOI: 10.3390/pharmaceutics13111802.
- Phelps J., Sanati-Nezhad A., Ungrin M., Duncan N.A., Sen A. Bioprocessing of Mesenchymal Stem Cells and their Derivatives: Toward Cell-Free Therapeutics. *Stem. Cells Int.* 2018; 2018:9415367. DOI: 10.1155/2018/9415367.
- Wiklander O.P.B., Brennan M.A., Lotvall J., Breakefield X.O., El Andaloussi S. Advances in Therapeutic Applications of Extracellular Vesicles. *Sci. Transl. Med.* 2019; 11. DOI: 10.1126/scitranslmed.aav8521.
- Gardiner C., Di Vizio D., Sahoo S., Thery C., Witwer K.W., Wauben M., Hill A.F. Techniques used for the Isolation and Characterization of Extracellular Vesicles: Results of a Worldwide Survey. *J. Extracell. Vesicles*. 2016; 5:32945. DOI: 10.3402/jev.v5.32945.
- Lobb R.J., Becker M., Wen S.W., Wong C.S., Wiegman A.P., Leimgruber A., Moller A. Optimized Exosome Isolation Protocol for Cell Culture Supernatant and Human Plasma. *J. Extracell. Vesicles*. 2015; 4:27031. DOI: 10.3402/jev.v4.27031.
- Royo F., Thery C., Falcon-Perez J.M., Nieuwland R., Witwer K.W. Methods for Separation and Characterization of Extracellular Vesicles: Results of a Worldwide Survey Performed by the ISEV Rigor and Standardization Subcommittee. *Cells*. 2020; 9:1955. DOI: 10.3390/cells9091955.
- Monguio-Tortajada M., Galvez-Monton C., Bayes-Genis A., Roura S., Borrás F.E. Extracellular Vesicle Isolation Methods: Rising Impact of Size-Exclusion Chromatography. *Cell Mol. Life Sci.* 2019; 76:2369-82. DOI: 10.1007/s00018-019-03071-y.
- Wan Y., Cheng G., Liu X., Hao S.-J., Nisic M., Zhu C.-D., Xia Y.-Q., Li W.-Q., Wang Z.-G., Zhang W.-L., Rice S.J., Sebastian A., Albert I., Belani C.P., Zheng S.-Y., Rapid magnetic isolation of extracellular vesicles via lipid-based nanoprobe. *Nat. Biomed. Eng.* 2017; 1:0058. DOI: 10.1038/s41551-017-0058.
- Pachler K., Lener T., Streif D., Dunai Z.A., Desgeorges A., Feichtner M., Öller M., Schallmoser K., Rohde E., Gimona M., A Good Manufacturing Practice-grade standard protocol for exclusively human mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles. *Cytotherapy*. 2017; 19:458-72. DOI: 10.1016/j.jcyt.2017.01.001.
- Fierabracci A., Fattore A., Muraca M. The Immunoregulatory Activity of Mesenchymal Stem Cells: 'State of Art' and 'Future Avenues. *Curr. Med. Chem.* 2016; 23:3014-24. DOI: 10.2174/0929867323666160627112827.
- Eleuteri S., Fierabracci A. Insights into the Secretome of Mesenchymal Stem Cells and Its Potential Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20:4597. DOI: 10.3390/ijms20184597.
- Nakanishi C., Nagaya N., Ohnishi S., Yamahara K., Takabatake S., Konno T., Hayashi K., Kawashiri M.A., Tsubokawa T., Yamagishi M. Gene and protein expression analysis of mesenchymal stem cells derived from rat adipose tissue and bone marrow. *Circ. J.* 2011; 75:2260-8. DOI: 10.1253/circj.cj-11-0246.
- Konala V.B.R., Bhande R., Pal R. Secretome studies of mesenchymal stromal cells (MSCs) isolated from three tissue sources reveal subtle differences in potency. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* 2020; 56:689-700. DOI: 10.1007/s11626-020-00501-1.
- Amable P.R., Teixeira M.V., Carias R.B., Granjeiro J.M., Borojevic R. Protein synthesis and secretion in human mesenchymal cells derived from bone marrow, adipose tissue and Wharton's jelly. *Stem. Cell Res. Ther.* 2014; 5:53. DOI: 10.1186/scri442.
- Matejkova N., Zajicova A., Hermankova B., Kossel J., Bohacova P., Holan V., Javorkova E. Characterisation of mesenchymal stem cells from patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of clinical pathology*. 2018; 71(8):735-42. DOI: 10.1136/jclinpath-2017-204681.
- Hickson L.J., Eirin A., Conley S.M., Taner T., Bian X., Saad A. et

- al. Diabetic kidney disease alters the transcriptome and function of human adipose-derived mesenchymal stromal cells but maintains immunomodulatory and paracrine activities important for renal repair. *Diabetes*. 2021; 70(7):1561-74. DOI: 10.2337/DB19-1268.
36. Morris A.D., Dalal S., Li H., Brewster L.P. Human diabetic mesenchymal stem cells from peripheral arterial disease patients promote angiogenesis through unique secretome signatures. *Surgery*. 2018; 163(4):870–6. DOI: 10.1016/j.surg.2017.11.018.
37. Gómez-Aristizábal A., Sharma A., Bakooshi M. A., Kapoor M., Gilbert P. M., Viswanathan S., Gandhi R. Stage-specific differences in secretory profile of mesenchymal stromal cells (MSCs) subjected to early- vs late-stage OA synovial fluid. *Osteoarthritis and cartilage*. 2017; 25(5):737-41. DOI: 10.1016/j.joca.2016.11.010.
38. Ferreira J.R., Teixeira G.Q., Santos S.G., Barbosa M.A., Almeida-Porada G., Gonçalves R.M. Mesenchymal stromal cell secretome: influencing therapeutic potential by cellular pre-conditioning. *Front. Immunol.* 2018; 9:2837. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02837.
39. Wangler S., Kamali A., Wapp C., Wuertz-Kozak K., Häckel S., Fortes C. et al. Uncovering the secretome of mesenchymal stromal cells exposed to healthy, traumatic, and degenerative intervertebral discs: a proteomic analysis. *Stem. Cell Res. Ther.* 2021; 12(1):11. DOI: 10.1186/s13287-020-02062-2.
40. Lu Z., Chen Y., Dunstan C., Roohani-Esfahani S., Zreiqat H. Priming adipose stem cells with tumor necrosis factor-alpha preconditioning potentiates their exosome efficacy for bone regeneration. *Tissue Eng A*. 2017; 23(21-22):1212-20. DOI: 10.1089/ten.tea.0548.