

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАК ПОДХОД К ИССЛЕДОВАНИЮ ИХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ *in vivo* (ОБЗОР)

© 2022 г. О. В. Паюшина*, @, Д. А. Цомартова*, Е. В. Черешнева*, М. Ю. Иванова*, Т. А. Ломановская*, М. С. Павлова*, С. Л. Кузнецов*

*Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, ул. Трубецкая, 8, Москва, 119991 Россия

@E-mail: payushina@mail.ru

Поступила в редакцию 02.11.2021 г.

После доработки 09.12.2021 г.

Принята к публикации 10.12.2021 г.

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) в настоящее время подвергаются активному исследованию. Знания о потенциях МСК к дифференцировке *in vivo*, получаемые в экспериментах по их трансплантации лабораторным животным, необходимы для лучшего понимания биологии этих клеток и их эффективного клинического применения. МСК могут быть трансплантированы в область тканевого дефекта или в системный кровоток, однако для многих исследовательских задач предпочтительна их эктопическая трансплантация под кожу, под капсулу почки или с использованием диффузионных камер. В обзоре рассмотрена область применения этих методов трансплантации МСК, проанализированы их преимущества и недостатки и систематизированы полученные с их помощью экспериментальные данные.

Ключевые слова: мезенхимные стромальные клетки, трансплантация, дифференцировка, экспериментальные модели, скаффолды, диффузионные камеры

DOI: 10.31857/S1026347022060129

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) в настоящее время являются одним из наиболее активно исследуемых типов клеток. Интерес к ним обусловлен как ключевой ролью этих клеток в гистогенезе соединительных тканей, так и актуальностью их применения в регенеративной медицине. Согласно критериям, разработанным Международным обществом клеточной терапии (Dominici *et al.*, 2006), одним из основных признаков принадлежности исследуемых клеток к МСК наряду с адгезивностью к культуральному пластику и определенным антигенным фенотипом (экспрессией CD105, CD73 и CD90 при отсутствии CD45, CD34, HLA-DR, CD14 или CD11b, CD79α или CD19) служит их способность дифференцироваться *in vitro*, по крайней мере, в трех направлениях — остеогенном, адипогенном и хондрогенном. Для оценки потенций МСК разработаны протоколы их культивирования в присутствии индукторов дифференцировки с последующим цитохимическим или иммуноцитохимическим анализом (Dominici *et al.*, 2006; Nakamura *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2007; Juffroy *et al.*, 2009; Kemp *et al.*, 2011). Такой подход, позволяющий варьировать состав среды и прижизненно наблюдать за состоянием клеток, удобен для анализа молекулярных механизмов, контро-

лирующих их дифференцировку. Однако в клеточной культуре невозможно воспроизвести все условия естественного микроокружения МСК, так что характер их дифференцировки может отличаться от такового *in vivo*. При этом сведения о том, как МСК проявляют свои потенции в естественных условиях организма, имеют не только научную, но и практическую значимость, так как необходимы для эффективного и безопасного клинического применения этих клеток. Этим обусловлены востребованность различных моделей трансплантации МСК экспериментальным животным и актуальность поиска оптимальных способов трансплантации.

Во многих работах МСК вводят в область искусственно созданного тканевого дефекта, прежде всего с целью изучения их роли в регенеративном процессе. Однако известно, что регенеративные эффекты МСК при повреждении различных тканей и органов обусловлены главным образом не дифференцировкой трансплантированных клеток, а паракринной секрецией ими биологически активных веществ (Gneschi *et al.*, 2016; Samsonraj *et al.*, 2017). Эффективность приживления донорских МСК в организме реципиента часто бывает крайне низкой; под влиянием патологически из-

мененного микроокружения они быстро гибнут и спустя длительный срок после трансплантации могут уже не обнаруживаться в тканях (Noiseux *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2007; Shou *et al.*, 2018). Многие авторы сообщают, что улучшение состояния поврежденной ткани после трансплантации МСК в область дефекта сопровождается дифференцировкой лишь немногих донорских клеток (Nakamura *et al.*, 2007; Noiseux *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2007) или не сопровождается ею вообще (Koronen *et al.*, 2007). Необходимо также учитывать вклад в регенеративный процесс стволовых и родоначальных клеток реципиента, резидентных или приходящих с кровотоком из других тканей. Это обстоятельство затрудняет определение происхождения дифференцированных клеток в зоне дефекта. Проблему частично решает мечение вводимых МСК, но в некоторых случаях, в частности, при трансплантации в поврежденный миокард, отмечен феномен их слияния со зрелыми клетками реципиента (Noiseux *et al.*, 2006; Freeman *et al.*, 2015), так что наличие метки в дифференцированной клетке может быть следствием клеточного слияния, а не истинной дифференцировки.

Аналогичные проблемы возникают при внутривенной трансплантации МСК. При таком способе введения клетки заселяют многие ткани и органы, что позволяет комплексно оценить их дифференцировочный потенциал. Однако число клеток донорского происхождения в тканях реципиента оказывается низким (Li, Niyibizi, 2016), прежде всего из-за оседания значительной части введенных МСК в капиллярах легких (Masterson *et al.*, 2021). В то же время известно, что ряд направлений дифференцировки МСК, в частности, хондрогенез, требуют непосредственных межклеточных взаимодействий (Wang *et al.*, 2020), которые возможны только при высокой локальной концентрации клеток, недостижимой в случае их системного введения. Кроме того, при этом способе трансплантации, как и при введении непосредственно в регенерирующую ткань, не исключено слияние донорских МСК с клетками реципиента, затрудняющее интерпретацию результатов эксперимента (Kemp *et al.*, 2011).

С учетом вышеизложенного предпочтительным для многих исследовательских задач методом анализа потенциалов МСК *in vivo* представляется их эктопическая трансплантация в участки организма, лишённые резидентных клеток-предшественников изучаемой дифференцировки. Такой подход позволяет сократить число экспериментальных переменных, в частности, минимизировать вклад клеток реципиента и влияние факторов микроокружения. В некоторых работах для анализа дифференцировки МСК их трансплантируют экспериментальным животным внутрибрюшинно (Kramann *et al.*, 2013) или внутримышечно (Qu *et al.*, 2011; Tušek *et al.*, 2017), однако эти способы имеют недостатки,

связанные соответственно с трудностью отслеживания судьбы клеток в брюшной полости и возможностью негативного влияния сокращений мышц на трансплантат (DeWard *et al.*, 2014). При внутримышечной трансплантации необходимо также учитывать возможность дифференцировки миосателлитов реципиента в остеогенном направлении, способной исказить результаты эксперимента (Scott *et al.*, 2012). Более перспективными представляются экспериментальные модели трансплантации МСК в подкожную соединительную ткань и под капсулу почки, а также использование закрытой системы, предполагающей помещение трансплантируемых клеток в диффузионную камеру. Эти модели будут рассмотрены в настоящем обзоре.

ПОДКОЖНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ

Помещение исследуемых клеток под кожу является технически наиболее простым методом их трансплантации. У лабораторных грызунов, наиболее часто используемых в подобных экспериментах, кожа слабо прикреплена к подлежащим тканям, что позволяет сформировать под ней карман, вмещающий большое количество клеток (в том числе при их трансплантации на искусственном носителе), и обеспечить достаточное пространство для роста ткани. При необходимости возможно прижизненное исследование роста трансплантата путем пальпации его через кожу (Juffroy *et al.*, 2009).

Инъекцированные под кожу в виде суспензии, МСК образуют в месте введения многоклеточные агрегаты, в которые врастают кровеносные сосуды реципиента (Preda *et al.*, 2020). В некоторых работах была показана возможность остеогенной дифференцировки МСК, пересаженных в виде суспензии (Juffroy *et al.*, 2009) или скрученных в рулон клеточных пластов (Ma *et al.*, 2010), однако в большинстве случаев трансплантируемые клетки заключают в скаффолды, позволяющие создать необходимое для дифференцировки микроокружение. Для анализа остеогенеза МСК трансплантируют на скаффолдах из материалов, сходных по составу с межклеточным веществом костной ткани, таких как коллаген, апатит, гидроксиапатит, трикальцийфосфат или различные их сочетания (Haynesworth *et al.*, 1992; McCarty *et al.*, 2009; Ye *et al.*, 2012; Ueda *et al.*, 2014; Qadir *et al.*, 2015; Calabrese *et al.*, 2017; Suzuki *et al.*, 2017; Weigand *et al.*, 2017; Duan *et al.*, 2018; Wittig *et al.*, 2018; Park *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020). Иногда в качестве носителя используют деминерализованный костный матрикс (Wang *et al.*, 2017), другие натуральные материалы (Yang *et al.*, 2018; Sathy *et al.*, 2019) или синтетические полимеры (Sharma *et al.*, 2018; Larson *et al.*, 2019). Как правило, такие скаффолды имеют пористую или волокнистую структуру, которая создает благоприятные условия для прикрепления

трансплантируемых клеток и врастания в формирующуюся костную ткань сосудов реципиента. По некоторым данным, культивирование МСК в остеогенной среде *in vitro* перед их нанесением на скаффолд способствует увеличению количества образуемой ими в организме реципиента костной ткани (Ye *et al.*, 2012), однако другие авторы сообщают о неэффективности предварительной индукции остеогенеза (Weigand *et al.*, 2017).

Хондрогенная дифференцировка МСК была показана при их подкожной трансплантации на полимерных скаффолдах, имеющих сетчатую структуру (Cui *et al.*, 2006; McCarty *et al.*, 2009; Larson *et al.*, 2019) или представляющих собой микро-сферы (Kuznetsov *et al.*, 2019). Клетки, как правило, предварительно инкубируют в индукционной среде (Cui *et al.*, 2006) или включают индукторы хондрогенеза в состав скаффолда (McCarty *et al.*, 2009), однако дифференцировка МСК в этом направлении может происходить и в отсутствие экзогенных индукторов (Kuznetsov *et al.*, 2019). Иногда хондрогенез в трансплантатах наблюдается одновременно с остеогенезом (Ma *et al.*, 2010; Larson *et al.*, 2019; Sathy *et al.*, 2019), при этом в случае использования пористых носителей может быть отмечено неодинаковое распределение костной и хрящевой тканей в трансплантате: остеогенез преобладает в сообщающихся порах, а хондрогенез — в порах с закрытыми концами, куда затруднено проникновение сосудов реципиента (Pittenger, Marshak, 2001). Очевидно, такая локализация хрящевой ткани отражает характерную для нее низкую потребность в кислороде.

Сообщения об адипогенной дифференцировке трансплантированных под кожу МСК немногочисленны. В частности, адипоциты, имеющие, вероятно, донорское происхождение, были обнаружены в связи с эктопической костью, развивающейся из МСК на скаффолдах из кальцийфосфатной керамики (McCarty *et al.*, 2009; Ueda *et al.*, 2014) или без скаффолда (Juffroy *et al.*, 2009). Крупные скопления адипоцитов образовывались под кожей мышей, получивших стромальные клетки из подкожной жировой ткани на скаффолде из фиброина шелка (Frazier *et al.*, 2016). Метод подкожной трансплантации позволяет также выявить потенции МСК к дифференцировке в эндотелий (Sharma *et al.*, 2018; Ljung *et al.*, 2019) и кроветворную строму, способную поддерживать дифференцировку кроветворных клеток реципиента (McCarty *et al.*, 2009; Ueda *et al.*, 2014).

В табл. 1 приведены основные материалы скаффолдов для трансплантации МСК под кожу экспериментальных животных и полученные с их использованием результаты. Многие из этих материалов перспективны для тканевой инженерии, и метод подкожной трансплантации позволяет тестировать их на совместимость с организмом

реципиента. В числе других задач, которые могут быть решены с помощью данной экспериментальной модели, можно назвать оценку влияния условий культивирования МСК на их потенции (Wittig *et al.*, 2018), изучение возможности стимуляции дифференцировки воздействием на организм реципиента тех или иных факторов — например, ультразвука низкой интенсивности (Cui *et al.*, 2006), а также выяснение молекулярных механизмов регуляции дифференцировки МСК путем изменения экспрессии генов цитокинов (Yang *et al.*, 2018) или микроРНК (Qadir *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2020) во вводимых клетках.

Однако из-за малого количества кровеносных сосудов в подкожной соединительной ткани и, как следствие, недостаточного кровоснабжения трансплантата его клетки могут не в полной мере проявлять свою способность к росту и дифференцировке. Известно, в частности, что костная ткань после имплантации остеоиндуктивных материалов под кожу образуется в меньшем количестве и позднее, чем в других экспериментальных моделях эктопического остеогенеза (Scott *et al.*, 2012).

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОД КАПСУЛУ ПОЧКИ

Метод трансплантации МСК под капсулу почки технически сложнее подкожной трансплантации, но, в отличие от последней, обеспечивает значительно лучшие условия для приживания донорских клеток в связи с обильным кровоснабжением. Дополнительным преимуществом является легкость поиска и идентификации трансплантата, тогда как под кожей он может быть макроскопически трудноотличим от окружающих тканей и мигрировать на значительное расстояние от места операции (Scott *et al.*, 2012). В качестве реципиента в данной экспериментальной модели используют, как правило, мышь, так как у этого вида животных капсула почки достаточно прочна и легко отделяется от паренхимы. Это позволяет вводить трансплантируемый материал в пространство между капсулой и тканью почки путем инъекции либо через небольшой разрез на капсуле. Анатомические особенности строения почки крысы затрудняют проведение трансплантации подобным образом, однако успешное приживание трансплантируемых клеток возможно при их помещении в поверхностный надрез почечной паренхимы (Паюшина и др., 2011, 2017).

Имеющиеся в литературе данные о различных вариантах применения описываемой экспериментальной модели приведены в табл. 2. МСК могут быть введены под капсулу почки в виде суспензии (Zhu *et al.*, 2021), клеточного конгломерата, полученного центрифугированием (Yu *et al.*, 2006) или соскребанием клеточного пласта (Сац и др., 2015), либо на носителях. В связи с риском повре-

Таблица 1. Подкожная трансплантация МСК

Материал скаффолда	Источник МСК	Реципиент	Наблюдаемая дифференцировка	Ссылка
—	Костный мозг мыши (постоянная линия)	Мышь	Остеогенез, адипогенез	Juffroy <i>et al.</i> , 2009
	Костный мозг кролика	Мышь	Остеогенез, хондрогенез	Ma <i>et al.</i> , 2010
ТКФ	Костный мозг человека	Мышь	Остеогенез	Haynesworth <i>et al.</i> , 1992; Ye <i>et al.</i> , 2012
	Пульпа зуба человека	Мышь	Остеогенез	Zhang <i>et al.</i> , 2020
ГА	Костный мозг овцы	Овца	Остеогенез	Weigand <i>et al.</i> , 2017
	Жировая ткань мыши	Мышь	Остеогенез, кроветворная строма, адипогенез	Ueda <i>et al.</i> , 2014
Апатитовое волокно	Костный мозг крысы	Крыса	Остеогенез	Suzuki <i>et al.</i> , 2017
ГА/ТКФ	Костный мозг человека	Мышь	Остеогенез, адипогенез	Qadir <i>et al.</i> , 2015
	Костный мозг и периферическая кровь мыши или кролика	Мышь	Остеогенез	Park <i>et al.</i> , 2019
	Костный мозг и жировая ткань лошади		Остеогенез	Duan <i>et al.</i> , 2018
	Костный мозг овцы	Мышь	Остеогенез, кроветворная строма, адипогенез	McCarty <i>et al.</i> , 2009
Коллаген	Костный мозг человека	Мышь	Остеогенез	Wittig <i>et al.</i> , 2018
Деминерализованный костный матрикс	Костный мозг крысы	Мышь	Остеогенез	Wang <i>et al.</i> , 2017
Коллаген/ГА	Жировая ткань человека	Мышь	Остеогенез	Calabrese <i>et al.</i> , 2017
Альгинат	Костный мозг свиньи	Мышь	Остеогенез, хондрогенез	Sathy <i>et al.</i> , 2019
ПКЛ	Костный мозг человека	Мышь	Остеогенез хондрогенез	Larson <i>et al.</i> , 2019
ПЛ-ко-КЛ	Костный мозг человека	Мышь	Остеогенез эндотелий	Sharma <i>et al.</i> , 2018
ПГК	Костный мозг кролика	Мышь	Хондрогенез	Cui <i>et al.</i> , 2006
Желатин	Костный мозг овцы	Мышь	Хондрогенез	McCarty <i>et al.</i> , 2009
Фибрин/ГК	Костный мозг человека	Мышь	Хондрогенез	Kuznetsov <i>et al.</i> , 2019
Фиброин шелка	Жировая ткань мыши	Мышь	Адипогенез	Frazier <i>et al.</i> , 2016
Матригель	Пуповина человека	Мышь	Остеогенез	Yang <i>et al.</i> , 2018
	Сердце плода человека	Мышь	Эндотелий	Ljung <i>et al.</i> , 2019

Примечания. ГА — гидроксиапатит, ГК — гиалуроновая кислота, ПГК — полигликолевая кислота, ПКЛ — поли-ε-капролактон, ПЛ-ко-КЛ — поли-L-лактид-ко-ε-капролактон, ТКФ — трикальцийфосфат.

ждения капсулы жестким материалом, таким как кальцийфосфатная керамика, в качестве носителей в этой модели, как правило, используют микросферы (Gurevich *et al.*, 2002; Trouche *et al.*, 2010), гели (Li *et al.*, 2014; Hashmi *et al.*, 2017; Gurung *et al.*, 2018) или мягкие губки (Prigozhina *et al.*, 2008; Чайлахян и др., 2014; O'Neill *et al.*, 2019). В этих условиях МСК костномозгового происхождения образуют под капсулой почки реципиента костную ткань и регенерируют строма костного мозга, способную поддерживать гемопоэз (Gurevich *et al.*, 2002; Prigozhina *et al.*, 2008; Чайлахян и др., 2014; Сац и др., 2015). Сходные результаты были получены и при трансплантации МСК из некоторых других источников, в частности, плаценты и пуповины (Prigozhina *et al.*, 2008), тогда как мезенхимные клетки зубного сосочка воспроизводили морфогенез зуба с образованием одонтобластов, предентина и дентина (Yu *et al.*, 2006). Впрочем, путем механического сжатия носителя удавалось также добиться однотогенной дифференцировки МСК костного мозга, трансплантированных в полимерном геле (Hashmi *et al.*, 2017). Показана и возможность индукции дифференцировки МСК в нетипичном для них направлении — в эпителий простаты; для этого их трансплантировали совместно с клетками мочевого синуса, а животным-реципиентам ввели тестостерон (Li *et al.*, 2014).

Анализ дифференцировки МСК под капсулой почки реципиента возможен также при трансплантации клеток в их естественном микроокружении, в составе тканевых фрагментов кровеносных и других органов. В случае пересадки кровеносных органов исходно содержащиеся в них гемопоэтические клетки гибнут, а стромальные предшественники проявляют потенции к хрящевой и/или костной дифференцировке, наличие и выраженность которых зависят от видовой и органной принадлежности клеток. В частности, в трансплантатах печени зародышей мыши первоначально формируется хрящевая ткань, которая к 12–14-м суткам после операции замещается костью с костномозговым органом (Старостин, Домарацкая, 2001), тогда как при пересадке печени зародышей крысы хрящевая ткань сохраняется более месяца, не сменяясь костной (Паюшина и др., 2011). В трансплантатах костного мозга различных видов животных образуется костная раковина с кровеносной стромой, иногда содержащей адипоциты (Bainton *et al.*, 1986; Schofield, 1986; Паюшина и др., 2017), а в трансплантированных фрагментах селезенки стромальные клетки не проявляют ни остеогенных, ни хондрогенных потенций (Shatry, Levi, 2004), как и при их пересадке на коллагеновом носителе после культивирования *in vitro* (O'Neill *et al.*, 2019). Строма, образующаяся в таких трансплантатах, заселяется кровеносными клетками реципиента и сохраняет присущую

исходному органу способность к поддержанию гемопоэза (Bainton *et al.*, 1986; Schofield, 1986; Старостин, Домарацкая, 2001; Shatry, Levi, 2004; Паюшина и др., 2017). Благодаря этому обстоятельству экспериментальная модель трансплантации тканевых фрагментов (как и выделенных из них МСК) под капсулу почки широко используется для оценки не только дифференцировочного потенциала МСК, но и их способности к организации кровеносного микроокружения.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ В ДИФфуЗИОННЫХ КАМЕРАХ

При всех достоинствах экспериментальных моделей трансплантации МСК под кожу или под капсулу почки, они не позволяют исключить вклад клеток реципиента в формирование ткани на месте трансплантации. Несмотря на отсутствие или малочисленность резидентных стромальных предшественников в этих локализациях, они могут мигрировать в область трансплантации под влиянием хемоаттрактантов, выделяемых поврежденной хирургическим вмешательством тканью. В этой связи получили распространение методы экспериментальной трансплантации МСК в замкнутых системах, таких как диффузионные камеры. Размер пор в их стенках обеспечивает свободный обмен макромолекулами между трансплантатом и его окружением, но предотвращает миграцию клеток, что позволяет однозначно установить донорское происхождение ткани, образующейся внутри камеры. Диффузионные камеры могут быть помещены в брюшную полость (Фриденштейн и др., 1970; Friedenstone *et al.*, 1987; Mardon *et al.*, 1987; Bab *et al.*, 1988; Bruder *et al.*, 1990; Haynesworth *et al.*, 1992; Gundle *et al.*, 1997; Date *et al.*, 2004; Yagami *et al.*, 2004; Паюшина и др., 2017; Mohanram *et al.*, 2020), под кожу (Tsuchiya *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2010, 2014; Yagami *et al.*, 2011; Claros *et al.*, 2014) или в субфасциальное пространство (Nawata *et al.*, 2005); судя по имеющимся данным, характер дифференцировки находящихся в них МСК не обнаруживает явной зависимости от места имплантации (табл. 3).

В ранних работах в диффузионных камерах трансплантировали, как правило, суспензию свежее выделенных клеток костного мозга, что позволяло выявить остеогенные и хондрогенные потенции содержащихся в нем стромальных предшественников (Mardon *et al.*, 1987; Bab *et al.*, 1988; Bruder *et al.*, 1990). Однако, как и при использовании вышеописанных экспериментальных моделей, МСК могут быть предварительно размножены *in vitro*. При этом возможно их помещение в камеру как в виде суспензии (Фриденштейн и др., 1970; Friedenstone *et al.*, 1987; Haynesworth *et al.*, 1992; Tsuchiya *et al.*, 2003; Nawata *et al.*, 2005; Паюшина и др., 2017), так и на скаффолде (Gundle *et al.*,

Таблица 2. Трансплантация МСК под капсулу почки

Трансплантат	Источник МСК	Реципиент	Наблюдаемая дифференцировка	Ссылка
Суспензия клеток	Эндометрий человека	Мышь	Эндотелий, строма эндометрия	Zhu <i>et al.</i> , 2021
Сгусток клеток	Зубной сосочек крысы	Крыса	Дентин	Yu <i>et al.</i> , 2006
Пласт клеток	Костный мозг мыши	Мышь	Остеогенез, кроветворная строма	Сац и др., 2015
Клетки на альгинатных микросферах	Костный мозг крысы	Крыса	н/а	Trouche <i>et al.</i> , 2010
Клетки на фибриновых микросферах	Костный мозг мыши	Мышь	Остеогенез, кроветворная строма	Gurevich <i>et al.</i> , 2002
Клетки на деминерализованном костном матриксе	Костный мозг, плацента, пуповина мыши	Мышь	Остеогенез, кроветворная строма	Prigozhina <i>et al.</i> , 2008
Клетки на желатиновой губке	Костный мозг мыши	Мышь	Остеогенез, кроветворная строма	Чайлахян и др., 2014
Клетки на коллагеновой губке	Селезенка мыши	Мышь	Кроветворная строма	O'Neill <i>et al.</i> , 2019
Клетки в фибриновом геле	Эндометрий человека	Мышь	н/а	Gurung <i>et al.</i> , 2018
Клетки в геле на основе ПИПАА	Костный мозг мыши	Мышь	Дентин	Hashmi <i>et al.</i> , 2017
Клетки в коллагеновом геле	Пуповина человека	Мышь	Эпителий простаты (при трансплантации совместно с клетками мочевого синуса плода крысы)	Li <i>et al.</i> , 2014
Тканевой фрагмент	Костный мозг мыши	Мышь	Остеогенез, кроветворная строма	Schofield, 1986
	Костный мозг кролика	Кролик	Остеогенез, адипогенез, кроветворная строма	Bainton <i>et al.</i> , 1986
	Костный мозг, кость плода крысы	Крыса	Остеогенез, адипогенез, кроветворная строма	Паюшина и др., 2017
	Пульпа зуба мыши	Мышь	Остеогенез, хондрогенез, дентин	Braut <i>et al.</i> , 2003
	Печень плода мыши	Мышь	Остеогенез, хондрогенез, кроветворная строма	Старостин, Домарацкая, 2001
	Печень плода крысы	Крыса	Хондрогенез	Паюшина и др., 2011
	Селезенка мыши	Мышь	Кроветворная строма	Shatry, Levi, 2004

Примечание. н/а — не анализировали; ПИПАА — поли-*N*-изопропилакриламид.

Таблица 3. Трансплантация МСК в диффузионных камерах

Материал скаффолда	Источник МСК	Реципиент и место трансплантации	Наблюдаемая дифференцировка	Ссылка
—	Костный мозг кролика	Кролик в/б	Остеогенез, онхрогенез	Friedenstein <i>et al.</i> , 1987
	Костный мозг крысы*	Крыса в/б	Остеогенез, хондрогенез, волокнистая соединительная ткань	Mardon <i>et al.</i> , 1987
	Костный мозг крысы, кость плода крысы	Крыса в/б	Остеогенез, хондрогенез	Паюшина и др., 2017
	Костный мозг человека*	Мышь в/б	Остеогенез, хондрогенез	Bab <i>et al.</i> , 1988
	Костный мозг человека	Мышь в/б	Волокнистая соединительная ткань	Haynesworth <i>et al.</i> , 1992
	Костный мозг мыши**	Мышь п/к	Хондрогенез	Tsuchiya <i>et al.</i> , 2003
	Костный мозг цыпленка*	Мышь в/б	Остеогенез хондрогенез	Bruder <i>et al.</i> , 1990
	Селезенка морской свинки	Морская свинка в/б	Остеогенез (при трансплантации совместно с эпителием мочевого пузыря)	Фриденштейн и др., 1970
	Мышцы плода крысы	Крыса в/м	Хондрогенез	Nawata <i>et al.</i> , 2005
	Линия USAC (человек)	Мышь в/б	Остеогенез, хондрогенез адипогенез	Yagami <i>et al.</i> , 2004
Коллагеновый гель	Линия C3H10T1/2 (мышь)	Мышь в/б	Остеогенез, хондрогенез, адипогенез	Date <i>et al.</i> , 2004
	Костный мозг кролика	Кролик п/к	Хондрогенез	Zheng <i>et al.</i> , 2010
	Костный мозг крысы	Крыса п/к	Остеогенез, хондрогенез	Claros <i>et al.</i> , 2014
ТКФ	Костный мозг собаки	Собака п/к	Остеогенез	Yagami <i>et al.</i> , 2011
ГА/ТКФ	Костный мозг человека	Мышь в/б	Остеогенез, хондрогенез	Gundle <i>et al.</i> , 1997
ГА	Пульпа зуба человека	Мышь в/б	Остеогенез	Mohanram <i>et al.</i> , 2020
Са-фосфатная керамика, фиброин шелка	Костный мозг кролика	Кролик п/к	волокнистая соединительная ткань	Zheng <i>et al.</i> , 2014

Примечания. в/б — внутрибрюшинно, в/м — внутримышечно, п/к — подкожно; ГА — гидроксиапатит, ТКФ — трикальций-фосфат; * — свежевыведенный костный мозг; ** — трансплантируемые клетки трансфицировали геном *Sox-9*.

Таблица 4. Сравнение моделей эктопической трансплантации МСК

Характеристики	Подкожная трансплантация	Трансплантация под капсулу почки	Трансплантация в диффузионных камерах
Техническая простота	+	—	±
Возможность трансплантации больших объемов материала	+	—	—
Кровоснабжение	±	+	—
Миграция клеток из места трансплантации	+	—	—
Возможность проникновения клеток реципиента в трансплантат	+	+	—

1997; Zheng *et al.*, 2010, 2014; Yagami *et al.*, 2011; Claros *et al.*, 2014; Mohanram *et al.*, 2020). Результаты экспериментов при этом, как правило, сопоставимы с таковыми при трансплантации некультивированных клеток: МСК из большинства источников дифференцируются в остеогенном и/или хондрогенном направлении (Friedenstein *et al.*, 1987; Gundle *et al.*, 1997; Nawata *et al.*, 2005; Zheng *et al.*, 2010; Yagami *et al.*, 2011; Claros *et al.*, 2014; Паюшина и др., 2017; Mohanram *et al.*, 2020). Адипогенез был показан только для постоянных линий мультипотентных стромальных предшественников, а именно USAC, полученной из остеосаркомы человека (Yagami *et al.*, 2004) и C3H10T1/2 из крыши черепа зародыша мыши (Date *et al.*, 2004), причем в последнем случае он требовал добавления в диффузионную камеру костного морфогенетического белка-2 (BMP-2).

Следует отметить, что отсутствие кровоснабжения и невозможность прямых регуляторных взаимодействий с клетками реципиента могут затруднять дифференцировку МСК в диффузионных камерах. В частности, она может не происходить без предварительной индукции *in vitro* (Gundle *et al.*, 1997; Claros *et al.*, 2014), добавления индукторов в имплантируемые камеры (Nawata *et al.*, 2005) или трансфекции клеток генами, кодирующими определенные факторы транскрипции (Tsuchiya *et al.*, 2003). Показательны результаты сравнения дифференцировки МСК из костного мозга человека при трансплантации иммунодефицитным мышам внутрибрюшинно в диффузионных камерах и подкожно в пористых керамических блоках: в первом случае образовывалась только волокнистая соединительная ткань, тогда как во втором — костная (Haynesworth *et al.*, 1992). Тем не менее данная экспериментальная модель, как и описанные выше, успешно применяется в целях тестирования скаффолдов для тканевой инженерии (Nawata *et al.*, 2005; Zheng *et al.*, 2014; Yagami *et al.*, 2011), сравнительной оценки потенциалов МСК из разных источников (Bab *et al.*, 1988; Паюшина и др., 2017), анализа молекулярных механизмов регуляции дифференцировки (Tsuchiya *et al.*, 2003).

Основные характеристики рассмотренных моделей эктопической трансплантации МСК обобщены в табл. 4.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные модели эктопической трансплантации МСК, находящихся в составе тканевых фрагментов, свежeweделенных или предварительно размноженных *in vitro*, были разработаны еще на начальном этапе изучения свойств стромальных клеток-предшественников в последней трети XX века и до сих пор продолжают успешно применяться для анализа особенностей дифференцировки этих клеток в условиях *in vivo*. Каждая из описанных моделей имеет свои преимущества и недостатки, определяющие область ее применения. Так, подкожная трансплантация предпочтительна для пересадки больших объемов материала, в том числе на керамических скаффолдах; пересадка под капсулу почки технически сложна и связана с ограничениями на размер трансплантата и материал носителя, однако богатое кровоснабжение во многих случаях позволяет добиться наилучшего приживления и наиболее выраженной дифференцировки клеток; трансплантация в диффузионных камерах исключает непосредственный контакт между клетками донора и реципиента, что, с одной стороны, облегчает интерпретацию результатов эксперимента, но с другой — создает неоптимальные условия для дифференцировки и не позволяет исследовать прямые межклеточные взаимодействия, в частности, способность пересаженных клеток к поддержанию гемопоза. Несомненную ценность для биомедицинской науки имеют и другие методы введения исследуемых клеток в организм животного-реципиента, такие как их инъекция в системный кровоток или локальная трансплантация в область повреждения ткани. Использование всех этих экспериментальных моделей позволяет получить информацию о взаимодействии МСК с организмом и регуляции их дифференцировки тканевым микроокружением, важную для фундаментальной науки и практической медицины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Паюшина О.В., Буторина Н.Н., Никонова Т.М., Кожевникова М.Н., Шевелева О.Н., Старостин В.И. Сравнительное исследование клонального роста и дифференцировки мезенхимных стромальных клеток из печени зародышей крысы на разных сроках пренатального развития // Цитология. 2011. Т. 53. № 11. С. 859–867.
- Паюшина О.В., Буторина Н.Н., Шевелева О.Н., Бухинник С.С., Березина А.А., Рамазанова С.Г., Домарацкая Е.И. Сравнительное исследование мезенхимных стромальных клеток костного мозга на разных стадиях индивидуального развития // Онтогенез. 2017. Т. 48. № 4. С. 315–324.
- Сац Н.В., Шипунова И.Н., Бигильдеев А.Е., Костюшев Д.С., Дризе Н.И. Особенности переноса гена в мезенхимальные стволовые клетки // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2015. № 1. С. 21–24.
- Старостин В.И., Домарацкая Е.И. Хондро- и остеогенез в эктопических трансплантатах печени зародышей мышей // Онтогенез. 2001. Т. 32. № 2. С. 114–117.
- Фриденштейн А.Я., Чайлахян Р.К., Лалыкина К.С. О фибробластоподобных клетках в культурах кроветворной ткани морских свинок // Цитология. 1970. Т. 12. № 9. С. 1147–1155.
- Чайлахян Р.К., Юсупов В.И., Горская Ю.Ф., Куралесова А.И., Герасимов Ю.В., Свиридов А.П., Тамбиев А.Х., Воробьева Н.Н., Прошева А.Г., Шишкова В.В., Москвина И.Л., Баераташвили В.Н. Эффекты акустического и КВЧ-воздействия на мультипотентные стромальные клетки при формировании гетеротопных костномозговых органов в тканеинженерных конструкциях // Бюлл. эксп. биол. мед. 2014. Т. 158. № 11. С. 640–644.
- Bab I., Passi-Even L., Gazit D., Sekeles E., Ashton B.A., Peylan-Ramu N., Ziv I., Ulmansky M. Osteogenesis in in vivo diffusion chamber cultures of human marrow cells // Bone Miner. 1988. V. 4. № 4. P. 373–386.
- Bainton D.F., Maloney M.A., Patt H.M., Stern R. Characterization of rabbit stromal fibroblasts derived from red and yellow bone marrow // J. Exp. Med. 1986. V. 163. № 2. P. 400–413.
- Braut A., Kollar E.J., Mina M. Analysis of the odontogenic and osteogenic potentials of dental pulp in vivo using a Colla1-2.3-GFP transgene // Int. J. Dev. Biol. 2003. V. 47. № 4. P. 281–292.
- Bruder S.P., Gazit D., Passi-Even L., Bab I., Caplan A.I. Osteochondral differentiation and the emergence of stage-specific osteogenic cell-surface molecules by bone marrow cells in diffusion chambers // Bone Miner. 1990. V. 11. № 2. P. 141–151.
- Calabrese G., Giuffrida R., Forte S., Fabbi C., Figallo E., Salvatorelli L., Memeo L., Parenti R., Gulisano M., Gulino R. Human adipose-derived mesenchymal stem cells seeded into a collagen-hydroxyapatite scaffold promote bone augmentation after implantation in the mouse // Sci. Rep. 2017. V. 7. № 1. P. 7110.
- Claros S., Rico-Llanos G.A., Becerra J., Andrades J.A. A novel human TGF- β 1 fusion protein in combination with rhBMP-2 increases chondro-osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells // Int. J. Mol. Sci. 2014. V. 15. № 7. P. 11255–11274.
- Cui J.H., Park K., Park S.R., Min B.H. Effects of low-intensity ultrasound on chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells embedded in polyglycolic acid: an in vivo study // Tissue Eng. 2006. V. 12. № 1. P. 75–82.
- Date T., Doiguchi Y., Nobuta M., Shindo H. Bone morphogenetic protein-2 induces differentiation of multipotent C3H10T1/2 cells into osteoblasts, chondrocytes, and adipocytes in vivo and in vitro // J. Orthop. Sci. 2004. V. 9. № 5. P. 503–508.
- DeWard A.D., Komori J., Lagasse E. Ectopic transplantation sites for cell-based therapy // Curr. Opin. Organ Transplant. 2014. V. 19. № 2. P. 169–174.
- Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // Cytotherapy. 2006. V. 8. № 4. P. 315–317.
- Duan W., Chen C., Haque M., Hayes D., Lopez M.J. Polymer-mineral scaffold augments in vivo equine multipotent stromal cell osteogenesis // Stem Cell Res. Ther. 2018. V. 9. № 1. P. 60.
- Frazier T.P., Bowles A., Lee S., Abbott R., Tucker H.A., Kaplan D., Wang M., Strong A., Brown Q., He J., Bunnell B.A., Gimple J.M. Serially transplanted nonpericytic CD146(-) adipose stromal/stem cells in silk bioscaffolds regenerate adipose tissue in vivo // Stem Cells. 2016. V. 34. № 4. P. 1097–1111.
- Freeman B.T., Kouris N.A., Ogle B.M. Tracking fusion of human mesenchymal stem cells after transplantation to the heart // Stem Cells Transl. Med. 2015. V. 4. № 6. P. 685–694.
- Friedenstein A.J., Chailakhyan R.K., Gerasimov U.V. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers // Cell Tissue Kinet. 1987. V. 20. № 3. P. 263–272.
- Gnecchi M., Danieli P., Malpasso G., Ciuffreda M.C. Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cells in tissue repair // Methods Mol. Biol. 2016. V. 1416. P. 123–146.
- Gundle R., Joyner C.J., Triffitt J.T. Interactions of human osteoprogenitors with porous ceramic following diffusion chamber implantation in a xenogeneic host // J. Mater. Sci. Mater. Med. 1997. V. 8. № 8. P. 519–523.
- Gurevich O., Vexler A., Marx G., Prigozhina T., Levitsky L., Slavin S., Shimeliovich I., Gorodetsky R. Fibrin microbeads for isolating and growing bone marrow-derived progenitor cells capable of forming bone tissue // Tissue Eng. 2002. V. 8. № 4. P. 661–672.
- Gurung S., Deane J.A., Darzi S., Werkmeister J.A., Gargett C.E. In vivo survival of human endometrial mesenchymal stem cells transplanted under the kidney capsule of immunocompromised mice // Stem Cells Dev. 2018. V. 27. № 1. P. 35–43.
- Hashmi B., Mammoto T., Weaver J., Ferrante T., Jiang A., Jiang E., Feliz J., Ingber D.E. Mechanical induction of dentin-like differentiation by adult mouse bone marrow stromal cells using compressive scaffolds // Stem Cell Res. 2017. V. 24. P. 55–60.

- Haynesworth S.E., Goshima J., Goldberg V.M., Caplan A.I. Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow // *Bone*. 1992. V. 13. № 1. P. 81–88.
- Juffroy O., Noël D., Delanoye A., Viltart O., Wolowczuk I., Verwaerde C. Subcutaneous graft of D1 mouse mesenchymal stem cells leads to the formation of a bone-like structure // *Differentiation*. 2009. V. 78. № 4. P. 223–231.
- Kemp K., Gordon D., Wraith D.C., Mallam E., Hartfield E., Uney J., Wilkins A., Scolding N. Fusion between human mesenchymal stem cells and rodent cerebellar Purkinje cells // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2011. V. 37. № 2. P. 166–178.
- Koponen J.K., Kekarainen T. E., Heinonen S., Laitinen A., Nystedt J., Laine J., Ylä-Herttuala S. Umbilical cord blood-derived progenitor cells enhance muscle regeneration in mouse hindlimb ischemia model // *Mol. Ther.* 2007. V. 15. № 12. P. 2172–2177.
- Kramann R., Kunter U., Brandenburg V.M., Leisten I., Ehling J., Klinkhammer B.M., Knüchel R., Floege J., Schneider R.K. Osteogenesis of heterotopically transplanted mesenchymal stromal cells in rat models of chronic kidney disease // *J. Bone Miner. Res.* 2013. V. 28. № 12. P. 2523–2534.
- Kuznetsov S.A., Hailu-Lazmi A., Cherman N., de Castro L.F., Robey P.G., Gorodetsky R. In vivo formation of stable hyaline cartilage by naïve human bone marrow stromal cells with modified fibrin microbeads // *Stem Cells Transl. Med.* 2019. V. 8. № 6. P. 586–592.
- Larson B.L., Yu S.N., Park H., Estes B.T., Moutos F.T., Bloomquist C.J., Wu P.B., Welter J.F., Langer R., Guilak F., Freed L.E. Chondrogenic, hypertrophic, and osteochondral differentiation of human mesenchymal stem cells on three-dimensionally woven scaffolds // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2019. V. 13. № 8. P. 1453–1465.
- Li F., Niyibizi C. Engraftability of murine bone marrow-derived multipotent mesenchymal stem cell subpopulations in the tissues of developing mice following systemic transplantation // *Cells Tissues Organs*. 2016. V. 201. № 1. P. 14–25.
- Li W., Ye B., Cai X.Y., Lin J.H., Gao W.Q. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into prostate-like epithelial cells in vivo // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 7. P. e102657.
- Ljung K., Grönlund A., Felldin U., Rodin S., Corbascio M., Österholm C., Grinnemo K.H. Human fetal cardiac mesenchymal stromal cells differentiate in vivo into endothelial cells and contribute to vasculogenesis in immunocompetent mice // *Stem Cells Dev.* 2019. V. 28. № 5. P. 310–318.
- Ma D., Ren L., Liu Y., Chen F., Zhang J., Xue Z., Mao T. Engineering scaffold-free bone tissue using bone marrow stromal cell sheets // *J. Orthop. Res.* 2010. V. 28. № 5. P. 697–702.
- Mardon H.J., Bee J., von der Mark K., Owen M.E. Development of osteogenic tissue in diffusion chambers from early precursor cells in bone marrow of adult rats // *Cell Tissue Res.* 1987. V. 250. № 1. P. 157–165.
- Masterson C.H., Tabuchi A., Hogan G., Fitzpatrick G., Kerrigan S.W., Jerkic M., Kuebler W.M., Laffey J.G., Curley G.F. Intra-vital imaging of mesenchymal stromal cell kinetics in the pulmonary vasculature during infection // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. № 1. P. 5265.
- McCarty R.C., Gronthos S., Zannettino A.C., Foster B.K., Xian C.J. Characterisation and developmental potential of ovine bone marrow derived mesenchymal stem cells // *J. Cell. Physiol.* 2009. V. 219. № 2. P. 324–333.
- Mohanram Y., Zhang J., Tsiridis E., Yang X.B. Comparing bone tissue engineering efficacy of HDPSCs, HBM-SCs on 3D biomimetic ABM-P-15 scaffolds in vitro and in vivo // *Cytotechnology*. 2020. V. 72. № 5. P. 715–730.
- Nakamura Y., Wang X., Xu C., Asakura A., Yoshiyama M., From A.H., Zhang J. Xenotransplantation of long-term-cultured swine bone marrow-derived mesenchymal stem cells // *Stem Cells*. 2007. V. 25. № 3. P. 612–620.
- Nawata M., Wakitani S., Nakaya H., Tanigami A., Seki T., Nakamura Y., Saito N., Sano K., Hidaka E., Takaoka K. Use of bone morphogenetic protein 2 and diffusion chambers to engineer cartilage tissue for the repair of defects in articular cartilage // *Arthritis Rheum.* 2005. V. 52. № 1. P. 155–163.
- Noiseux N., Gnecci M., Lopez-Illasaca M., Zhang L., Solomon S.D., Deb A., Dzau V.J., Pratt R.E. Mesenchymal stem cells overexpressing Akt dramatically repair infarcted myocardium and improve cardiac function despite infrequent cellular fusion or differentiation // *Mol. Ther.* 2006. V. 14. № 6. P. 840–850.
- O'Neill H.C., Lim H.K., Periasamy P., Kumarappan L., Tan J.K.H., O'Neill T.J. Transplanted spleen stromal cells with osteogenic potential support ectopic myelopoiesis // *PLoS One*. 2019. V. 14. № 10. P. e0223416.
- Park Y.K., Heo S.J., Koak J.Y., Park G.S., Cho T.J., Kim S.K., Cho J. Characterization and differentiation of circulating blood mesenchymal stem cells and the role of phosphatidylinositol 3-kinase in modulating the adhesion // *Int. J. Stem Cells*. 2019. V. 12. № 2. P. 265–278.
- Pittenger M., Marshak D.R. Mesenchymal stem cells of human adult bone marrow // *Stem Cell Biology* / Eds. Marshak D.R., Gottlieb D., Gardner R. N-Y., Cold Spring Harbor: The Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. P. 349–373.
- Preda M.B., Lupan A.M., Neculachi C.A., Leti L.I., Fenyó I.M., Popescu S., Rusu E.G., Marinescu C.I., Simionescu M., Burlacu A. Evidence of mesenchymal stromal cell adaptation to local microenvironment following subcutaneous transplantation // *J. Cell. Mol. Med.* 2020. V. 24. № 18. P. 10889–10897.
- Prigozhina T.B., Khitrin S., Elkin G., Eizik O., Morecki S., Slavin S. Mesenchymal stromal cells lose their immunosuppressive potential after allotransplantation // *Exp. Hematol.* 2008. V. 36. № 10. P. 1370–1376.
- Qadir A.S., Um S., Lee H., Baek K., Seo B.M., Lee G., Kim G.S., Woo K.M., Ryoo H.M., Baek J.H. miR-124 negatively regulates osteogenic differentiation and in vivo bone formation of mesenchymal stem cells // *J. Cell. Biochem.* 2015. V. 116. № 5. P. 730–742.
- Qu D., Li J., Li Y., Khadka A., Zuo Y., Wang H., Liu Y., Cheng L. Ectopic osteochondral formation of biomimetic porous PVA-n-HA/PA6 bilayered scaffold and BMSCs construct in rabbit // *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 2011. V. 96. № 1. P. 9–15.
- Samsornraj R.M., Raghunath M., Nurcombe V., Hui J.H., van Wijnen A.J., Cool S.M. Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine // *Stem Cells Transl. Med.* 2017. V. 6. № 12. P. 2173–2185.

- Sathy B.N., Daly A., Gonzalez-Fernandez T., Olvera D., Cunniffe G., McCarthy H.O., Dunne N., Jeon O., Alsberg E., Donahue T.L.H., Kelly D.J. Hypoxia mimicking hydrogels to regulate the fate of transplanted stem cells // *Acta Biomater.* 2019. V. 88. P. 314–324.
- Schofield R. Standardization of procedures for ectopic marrow grafting: I. Influence of sex of recipient // *Exp. Hematol.* 1986. V. 14. № 1. P. 66–71.
- Scott M.A., Levi B., Askarinam A., Nguyen A., Rackohn T., Ting K., Soo C., James A.W. Brief review of models of ectopic bone formation // *Stem Cells Dev.* 2012. V. 21. № 5. P. 655–667.
- Sharma S., Sapkota D., Xue Y., Rajthala S., Yassin M.A., Finne-Wistrand A., Mustafa K. Delivery of VEGFA in bone marrow stromal cells seeded in copolymer scaffold enhances angiogenesis, but is inadequate for osteogenesis as compared with the dual delivery of VEGFA and BMP2 in a subcutaneous mouse model // *Stem Cell Res. Ther.* 2018. V. 9. № 1. P. 23.
- Shatry A.M., Levy R.B. Engraftment of splenic tissue as a method to investigate repopulation by hematopoietic cells from host and donor marrow // *Stem Cells Dev.* 2004. V. 13. № 4. P. 390–399.
- Shou K., Huang Y., Qi B., Hu X., Ma Z., Lu A., Jian C., Zhang L., Yu A. Induction of mesenchymal stem cell differentiation in the absence of soluble inducer for cutaneous wound regeneration by a chitin nanofiber-based hydrogel // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2018. V. 12. № 2. P. 867–880.
- Suzuki K., Nagata K., Yokota T., Honda M., Aizawa M. Histological evaluations of apatite-fiber scaffold cultured with mesenchymal stem cells by implantation at rat subcutaneous tissue // *Biomed. Mater. Eng.* 2017. V. 28. № 1. P. 57–64.
- Trouche E., Girod Fullana S., Mias C., Ceccaldi C., Tortosa F., Seguelas M.H., Calise D., Parini A., Cussac D., Sallerin B. Evaluation of alginate microspheres for mesenchymal stem cell engraftment on solid organ // *Cell Transplant.* 2010. V. 19. № 12. P. 1623–1633.
- Tsuchiya H., Kitoh H., Sugiura F., Ishiguro N. Chondrogenesis enhanced by overexpression of sox9 gene in mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 301. № 2. P. 338–343.
- Tuček L., Kočí Z., Kárová K., Doležalová H., Suchánek J. The osteogenic potential of human nondifferentiated and pre-differentiated mesenchymal stem cells combined with an osteoconductive scaffold – early stage healing // *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2017. V. 60. № 1. P. 12–18.
- Ueda T., Fujita A., Ogawa R., Itoh Y., Fukunaga Y., Shimada T., Migita M. Adipose-derived stromal cells grown on a hydroxyapatite scaffold can support hematopoiesis in regenerated bone marrow in vivo // *Cell Biol. Int.* 2014. V. 38. № 6. P. 790–798.
- Wang Z., Wu D., Zou J., Zhou Q., Liu W., Zhang W., Zhou G., Wang X., Pei G., Cao Y., Zhang Z.Y. Development of demineralized bone matrix-based implantable and biomimetic microcarrier for stem cell expansion and single-step tissue-engineered bone graft construction // *J. Mater. Chem. B.* 2017. V. 5. № 1. P. 62–73.
- Wang Y., Xiao Y., Long S., Fan Y., Zhang X. Role of N-cadherin in a niche-mimicking microenvironment for chondrogenesis of mesenchymal stem cells in vitro // *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2020. V. 6. № 6. P. 3491–3501.
- Weigand A., Beier J.P., Schmid R., Knorr T., Kilian D., Götzl R., Gerber T., Horch R.E., Boos A.M. Bone tissue engineering under xenogeneic-free conditions in a large animal model as a basis for early clinical applicability // *Tissue Eng. Part A.* 2017. V. 23. № 5–6. P. 208–222.
- Wittig O., Diaz-Solano D., Cardier J. Viability and functionality of mesenchymal stromal cells loaded on collagen microspheres and incorporated into plasma clots for orthopaedic application: Effect of storage conditions // *Injury.* 2018. V. 49. № 6. P. 1052–1057.
- Wu Y., Chen L., Scott P.G., Tredget E.E. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis // *Stem Cells.* 2007. V. 25. № 10. P. 2648–2659.
- Yagami K., Shiota T., Shintani S., Mayahara M., Nishizawa M., Yanagisawa S., Sammons R., Kuboki Y. Honeycomb form β -tricalcium phosphate induces osteogenesis by geometrical property with BMSC // *Biomed. Mater. Eng.* 2011. V. 21. № 5–6. P. 291–306.
- Yagami K., Uyama Y., Yoshizawa Y., Kakuta S., Yamaguchi A., Nagumo M. A human chondrogenic cell line retains multi-potency that differentiates into osteoblasts and adipocytes // *Bone.* 2004. V. 34. № 4. P. 648–655.
- Yang S.J., Son J.K., Hong S.J., Lee N.E., Shin D.Y., Park S.H., An S.B., Sung Y.C., Park J.B., Yang H.M., Kim S.J. Ectopic vascularized bone formation by human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells expressing bone morphogenetic factor-2 and endothelial cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018. V. 504. № 1. P. 302–308.
- Ye X., Yin X., Yang D., Tan J., Liu G. Ectopic bone regeneration by human bone marrow mononucleated cells, undifferentiated and osteogenically differentiated bone marrow mesenchymal stem cells in beta-tricalcium phosphate scaffolds // *Tissue Eng. Part C Methods.* 2012. V. 18. № 7. P. 545–556.
- Yu J.H., Shi J.N., Deng Z.H., Zhuang H., Nie X., Wang R.N., Jin Y. Cell pellets from dental papillae can reexhibit dental morphogenesis and dentinogenesis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. V. 346. № 1. P. 116–124.
- Zhang B., Huo S., Cen X., Pan X., Huang X., Zhao Z. circAKT3 positively regulates osteogenic differentiation of human dental pulp stromal cells via miR-206/CX43 axis // *Stem Cell Res. Ther.* 2020. V. 11. № 1. P. 531.
- Zheng L., Fan H.S., Sun J., Chen X.N., Wang G., Zhang L., Fan Y.J., Zhang X.D. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells induced by collagen-based hydrogel: an *in vivo* study // *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2010. V. 93. № 2. P. 783–792.
- Zheng L., Yang J., Fan H., Zhang X. Material-induced chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells is material-dependent // *Exp. Ther. Med.* 2014. V. 7. № 5. P. 1147–1150.
- Zhu X., Yu F., Yan G., Hu Y., Sun H., Ding L. Human endometrial perivascular stem cells exhibit a limited potential to regenerate endometrium after xenotransplantation // *Hum. Reprod.* 2021. V. 36. № 1. P. 145–159.

Experimental Transplantation of Mesenchymal Stromal Cells as an Approach to Studying Their Differentiation *in vivo* (Review)

**O. V. Payushina^{1, #}, D. A. Tsomartova¹, Ye. V. Chereshneva¹, M. Yu. Ivanova¹, T. A. Lomanovskaya¹,
M. S. Pavlova¹, and S. L. Kuznetsov¹**

¹ *Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
(Sechenov University), 8-2 Trubetskaya str., Moscow, 119991 Russia*

[#]*e-mail: payushina@mail.ru*

Mesenchymal stromal cells (MSCs) are currently under active investigation. Knowledge about the *in vivo* differentiation potencies of MSCs obtained in experiments on their transplantation to laboratory animals is necessary for a better understanding of the biology of these cells and their effective clinical application. MSCs can be transplanted into a tissue defect or into the systemic circulation; however, for many research purposes, their ectopic transplantation under the skin, under the kidney capsule, or using diffusion chambers is preferable. The review considers the scope of these methods of MSC transplantation, analyzes their advantages and disadvantages, and systematizes the experimental data obtained with them.

Keywords: mesenchymal stromal cells, transplantation, differentiation, experimental models, scaffolds, diffusion chambers