

Особенности производства и контроля качества соматотерапевтических лекарственных препаратов на основе мезенхимальных стволовых клеток

*О. А. РАЧИНСКАЯ¹, Е. В. МЕЛЬНИКОВА¹, В. А. МЕРКУЛОВ^{1,2}

¹ ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Резюме

Цель. Изучение международного опыта обеспечения качества препаратов на основе мезенхимальных стволовых/стромальных клеток (МСК) для выявления особенностей стратегии контроля качества при производстве и экспертной оценке в рамках процедуры государственной регистрации в РФ. **Материал и методы.** Представленные материалы получены из нормативной документации регуляторных органов США, ЕС, Австралии, Республики Кореи и Японии, с официального сайта Международного общества по изучению стволовых клеток, а также из опубликованных научных исследований. **Результаты.** В настоящее время в мире разрешены к коммерческому использованию восемь препаратов, содержащих МСК, и около тысячи находятся на разных фазах клинических исследований. При анализе опыта проведения контроля качества этих препаратов были выявлены особенности и риски, связанные с их производством и природой клеточного компонента. Так, использование донорского материала и реактивов животного происхождения обуславливает риски инфицирования и возникновения иммуногенности; необходимость культивирования МСК связано с риском туморогенеза; образование промежуточных продуктов в ходе производственного процесса и их криоконсервация приводит к необходимости создания и характеристики банков клеток; разнообразие механизмов действия МСК требует чёткого объяснения способа достижения терапевтического эффекта; вариабельность донорского материала и методов обработки клеток делает затруднительным получение продукта с воспроизводимым составом. Данные особенности и риски составляют основу стратегии и стандартизации контроля качества этой группы препаратов. Как следствие, контроль качества приобретает ряд особенностей: ортогональный подход при исследовании подлинности и активности продукта, с доказательством механизма действия; необходимость характеристики клеток в процессе культивирования и составления отдельных спецификаций на промежуточные продукты и активную субстанцию; проведение исследований содержания примесей, иммуногенности (для препаратов аллогенного применения) и туморогенного потенциала; возможность отсутствия результатов тестов на стерильность и микоплазму на момент введения препарата пациенту.

Ключевые слова: соматотерапевтические лекарственные препараты; мезенхимальные стволовые/стромальные клетки; контроль качества; показатели качества; спецификация

Для цитирования: Рачинская О. А., Мельникова Е. В., Меркулов В. А. Особенности производства и контроля качества соматотерапевтических лекарственных препаратов на основе мезенхимальных стволовых клеток. *Антибиотики и химиотер.* 2025; 70 (1–2): 58–75. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-1-2-58-75>. EDN: NZMUJI.

The Aspects of Manufacturing and Quality Control of Somatic Medications Based on Mesenchymal Stem Cells

*OLGA A. RACHINSKAYA¹, EKATERINA V. MELNIKOVA¹, VADIM A. MERKULOV^{1,2}

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

The aim of the study was to review the international experience in ensuring the quality of medicinal products based on mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) in order to identify the aspects of the quality control strategy during manufacturing and expert assessment within the state registration procedure in the Russian Federation. **Material and methods.** The presented materials are obtained from the regulatory documents of the USA, EU, Australia, the Republic of Korea and Japan, official website of the International Society for Stem Cell Research, as well as published scientific studies. **Results.** Currently, eight products containing MSCs are approved for commercial use globally, and about a thousand are in different phases of clinical trials. When the experience of quality control of these products was analyzed, aspects and risks associ-

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: Rachinskaya@expmed.ru



*Correspondence to:
E-mail: Rachinskaya@expmed.ru



EDN: NZMUJI

ated with their manufacture, as well as the nature of the cellular component, were identified. Thus, the use of donor material and reagents of animal origin poses a risk of infection and the development of immunogenicity; the cultivation MSCs is associated with the risk of tumorigenicity; the formation of intermediate products during the manufacturing process and their cryopreservation leads to the creation and characterization of cell banks; the variety of mechanisms of action of MSCs requires a clear explanation of the method of achieving a therapeutic effect; the variability of donor material and cell processing methods makes it difficult to obtain a product with a reproducible composition. These aspects and risks form the basis of the strategy and standardization of quality control for this product group. As a result, quality control acquires a number of aspects: an orthogonal approach to studying the identity and potency, confirming the mechanism of action; the requirement of cell characterization during the cultivation, as well as compilation of separate specifications for intermediate products and the active substance; conducting studies of impurity content, immunogenicity (for allogeneic products) and tumorigenicity; the possibility of lack of sterility and mycoplasma test results at the time of administration to the patient.

Keywords: somatic medications; mesenchymal stem/stromal cells; quality control; quality attributes; specification

For citation: Rachinskaya O. A., Melnikova E. V., Merkulov V. A. The aspects of manufacturing and quality control of somatic mesenchymal stem cells based medicinal products. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (1–2): 58–75. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-1-2-58-75>. EDN: NZMUJI.

Основой стратегии и стандартизации процедуры контроля качества лекарственных препаратов (ЛП) является применение унифицированных подходов к определению достаточного его объёма, показателей и методик, обеспечивающих релевантные и убедительные доказательства соответствия качества препарата его спецификации. Наличие в составе ЛП жизнеспособных клеток обуславливает необходимость в особых подходах как к организации самого процесса экспертизы качества, так и к оценке показателей качества, учитывающей индивидуальные особенности (свойства, функции) типа клеток, входящих в состав препарата. Мезенхимальные стромальные/стволовые клетки (МСК) представляют собой потенциально привлекательный продукт для терапии различных заболеваний, таких как, например, реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и другие аутоиммунные заболевания, фиброз печени, болезни сердца, диабет, остеоартрит и повреждение спинного мозга [1–6].

МСК в большинстве случаев получают из стромы костного мозга (КМ) или жировой ткани (ЖТ). Кроме того, МСК могут быть выделены и из других тканей, таких как сетчатка, печень, эпителий желудка, сухожилия, синовиальная оболочка, плацента, пуповина и периферическая кровь [3]. МСК характеризуются адгерентным ростом на пластике, экспрессией специфических поверхностных антигенов и мультипотентным потенциалом дифференцировки, главным образом, в клетки мезенхимальной линии [2, 7].

Ключевыми подходами к определению унифицированной концепции контроля качества ЛП на основе МСК будет являться выявление особенностей исходного материала, производственного процесса, свойств и функций самих клеток, определяющих риски их применения, эффективность и безопасность. Для обеспечения производства препаратов на основе МСК высокого качества необходим многоуровневый контроль качества всего технологического процесса [8].

Проблемы оценки качества МСК могут возникать, начиная с этапа выделения биологического материала вследствие его неоднородности и вариабельности, проведения *in vitro* манипуляций с клетками, а также ввиду сложности оценки их биологических характеристик. Манипуляции с МСК вне человеческого организма создают дополнительный риск заражения инфекционными агентами, а длительное культивирование клеток может привести к накоплению мутаций, а также геномной и эпигенетической нестабильности. Подобные факторы оказывают влияние на функции клеток и могут вызывать злокачественную трансформацию клеток [9–10]. На отношение ожидаемой пользы к возможному риску применения продуктов на основе МСК могут оказать влияние пролиферативная активность и потенциал дифференцировки клеток, источник получения (аутологичный, аллогенный) биологического материала, тип генетических манипуляций (если таковые имеются), гомологичное или негомологичное использование, возможность неэктопического приживления, длительность персистенции у реципиента и возможная интеграция клеток в ткани или органы [11].

Для организации самого процесса контроля качества препаратов на основе МСК с целью обеспечения соответствия готового продукта (ГП) каждой серии (партии) требованиям спецификации, ключевыми особенностями является оценка исходного донорского материала, промежуточных продуктов и ГП при выпуске [12].

В России, согласно нормативно-правовой базе ЕАЭС, препараты, содержащие МСК, относятся к высокотехнологичным лекарственным препаратам (ВТЛП) на основе соматических клеток (соматотерапевтические лекарственные препараты, СТЛП) или к препаратам тканевой инженерии [13]. На российском фармацевтическом рынке в настоящее время отсутствуют СТЛП на основе МСК, имеющие государственную регистрацию, однако исследования по их разработке проводятся [14–19]. Поэтому выявление ключевых осо-

бенностей стратегии контроля качества СТЛП на основе МСК является актуальной задачей в сфере их государственного регулирования и фармакологического надзора.

Цель — изучение международного опыта обеспечения качества препаратов на основе МСК для выявления особенностей стратегии контроля их качества при производстве и экспертной оценке в рамках процедуры государственной регистрации в РФ.

Материал и методы

Для исследования особенностей разработки и контроля качества СТЛП на основе МСК были использованы материалы, представленные в нормативной документации, в том числе экспертных отчётах регуляторных органов США (U.S. Food and Drug Administration, FDA), ЕС (European Medicines Agency, EMA), Австралии (Therapeutic Goods Administration, TGA) и Японии (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, PMDA), а также на официальном сайте Международного общества по изучению стволовых клеток (International Society for Stem Cell Research, ISSCR), в обзорных и научных работах по исследованию структуры и свойств этой группы препаратов.

По состоянию на май 2024 г. на сайтах регуляторных органов разных стран и в научных статьях представлены данные, как минимум, о восьми разрешённых к медицинскому применению на коммерческой основе препаратах на основе МСК.

Alofisel Injection (darvadstocel), Takeda Pharmaceutical Company Ltd, Ирландия, разрешён к медицинскому применению в странах ЕС [20] и Японии в 2021 г. [21]. Препарат предназначен для лечения колоректальных фистул у взрослых пациентов с болезнью Крона при отсутствии ответа хотя бы на одну линию терапии традиционными лекарственными средствами (ЛС), содержит аллогенные МСК, полученные из ЖТ здоровых доноров.

Prochymal (Remestemcel-L, *ex vivo* adult human mesenchymal stem cells) был разработан биотехнологической компанией Osiris Therapeutics Inc. (США). Prochymal содержит аллогенные МСК КМ здоровых доноров и направлен на устранение острой РТПХ после аллогенной пересадки гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) [22].

Препарат впервые получил регистрационное удостоверение в Канаде в мае 2012 г., в июне 2012 г. — в Новой Зеландии, а в 2015 г. в Австралии [22]. В 2012 г. EMA и FDA предоставили Prochymal статус орфанного препарата.

В 2013 г. Osiris Therapeutics продал бизнес по производству Prochymal австралийской компании Mesoblast Ltd, а в 2014 г. продукт был зарегистрирован в Японии как орфанный под торговым названием Temcell HS Inj. (Human (allogenic) bone marrow-derived mesenchymal stem cells), JCR Pharmaceuticals Co., Ltd., Япония [23].

Stemirac for Injection (Human (autologous) bone marrow-derived mesenchymal stem cells), Nipro Corporation, зарегистрирован в Японии в 2018 г. Предназначен для лечения травм спинного мозга аутологичными клетками, выделенными из КМ [24].

Stempeucel[®], M/s Stempeucetics Research, является запатентованной платформой для клеточной терапии, зарегистрированной в Индии в 2017 г. по показанию к применению — критическая ишемия конечностей, развивающаяся вследствие болезни Бюргера, в 2020 г. — критическая ишемия конечностей, вызванная атеросклеротическим заболеванием периферических артерий, а в 2022 г. — остеоартрит коленного сустава. Предполагается применение платформы для лечения диабетической язвы стопы, анарктальных фистул при болезни Крона, а также острого респираторного дистресс-синдрома при пневмонии, вызванной вирусом COVID-19. Препарат содержит пулированные аллогенные МСК КМ [25, 26].

Следующие четыре препарата производятся и зарегистрированы в Республике Корея.

Препарат Cartistem[®], MEDIPOST Co., Ltd., был зарегистрирован в Республике Корея в 2012 г. Аутологичные МСК, выделенные из пуповинной крови (ПК), используются для лечения дефектов хряща коленного сустава у пациентов с остеоартритом IV степени, в результате дегенеративного заболевания или повторной травмы [27].

Cellgram[®], Pharmacell Co., Ltd., содержит аутологичные МСК КМ и предназначен для улучшения функций сердца и снижения риска развития отдалённых неблагоприятных сердечнососудистых событий за счёт улучшения фракции выброса левого желудочка у пациентов с острым инфарктом миокарда. Одобрен для клинического использования национальным регуляторным органом в июле 2011 г. и, таким образом, является первым в мире коммерческим продуктом для терапии стволовыми клетками. Также проводятся различные клинические исследования (КИ) по применению препарата при таких заболеваниях, как инсульт, травма спинного мозга, цирроз печени, эректильная дисфункция и критическая ишемия конечностей [28].

Cupistem[®], Anterogen, содержит аутологичные МСК ЖТ. Предназначен для лечения анарктальных фистул при болезни Крона. Зарегистрирован в Республике Корея в 2012 г. [29].

Neuronata-R[®] (lenzumestocel), Corestem Inc., содержит аутологичные МСК КМ и применяется для замедления прогрессирования и улучшения состояния при боковом амиотрофическом склерозе. Препарат зарегистрирован национальным регуляторным органом в 2014 г. [30].

Учитывая отсутствие экспертных отчётов по зарегистрированным препаратам на сайте регуляторного органа Республики Корея, содержащих данные по производству, проведению контроля качества и процедуре регистрации, далее эти препараты не рассматриваются.

Результаты

Особенности и риски использования мезенхимальных стволовых клеток

Механизм действия МСК, исследования подлинности и активности. МСК вызывают большой интерес для регенеративной медицины, поскольку способны участвовать в регуляции множества механизмов и оказывать паракринное, трофическое, противовоспалительное и иммуномодулирующее действия, влияя на все стадии регенерации повреждённых тканей, вследствие способности секретировать различные биологически активные вещества [31]. Кроме того, МСК обладают направленной миграционной способностью к повреждённым тканям, которую учёные разных стран мира стараются сделать ещё более эффективной, пролиферативной активностью, а также потенциалом дифференцировки в разные типы ткани [32–36]. В основе биологического действия препаратов, содержащих МСК, могут быть использованы разные свойства этого типа клеток для достижения необходимого терапевтического эффекта в зависимости от этиологии заболевания, для лечения которых разработаны данные препараты (табл. 1).

Механизм действия МСК и статус их дифференцировки лежит в основе определения показателя качества «Активность». Протокол исследова-

Таблица 1. Механизм действия препаратов, содержащих МСК (составлено по [20, 22–25])

Table 1. Mechanism of action of drugs containing MSC (compiled according to [20, 22–25])

Alofisel	Prochymal/Temcell	Stemirac	Stempeucel
Иммуномодуляция и противовоспалительное действие: провоспалительные цитокины, в частности IFN- γ , продуцируемые лимфоцитами, активируют введенные МСК. Активированные МСК подавляют пролиферацию лимфоцитов и ингибируют высвобождение цитокинов, что приводит к снижению пролиферации и цитотоксической активности NK-клеток, уменьшению миграции иммунных клеток в воспаленные ткани, индукции клеток-супрессоров воспаления (Treg-клеток и макрофагов M2), а также усилению фагоцитоза макрофагами и нейтрофилами	Иммуномодуляция, противовоспалительное, тканезащитное и трофическое действия: провоспалительные цитокины (IFN- α и IFN- γ) взаимодействуют с рецепторами введенных МСК, в результате чего клетки продуцируют простагландин E2, который блокирует высвобождение интерферонов лимфоцитами и их пролиферацию. Также МСК регулируют выработку противовоспалительных цитокинов (IL-4 и IL-10) и факторов роста кератиноцитов и эндотелия сосудов	Миграция МСК и накопление их в местах повреждения нервной ткани; дифференцировка МСК в нервные клетки; секреция ими нейротрофических факторов; иммуномодулирующее действие	Иммуномодуляция и индукция ангиогенеза

Примечание. МСК — мезенхимальные стволовые/стромальные клетки; IFN- α — интерферон- α ; IFN- γ — интерферон- γ ; NK — естественные киллеры; IL — интерлейкин.

Note. МСК — mesenchymal stem/stromal cells; IFN- α — interferon alpha; IFN- γ — interferon-gamma; NK — natural killer; IL — interleukin.

ния активности должен отражать ортогональный подход в зависимости от терапевтического применения продукта и может включать в себя как функциональные тесты, так и анализ маркеров:

- исследования экспрессии биологически активных веществ (например, факторов роста, цитокинов);

- исследования по формированию клеточного/внеклеточного матрикса/структур;

- исследования взаимодействия МСК с клетками иммунной системы (например, иммунная активация/ингибирование);

- исследования потенциала дифференцировки/пролиферации/миграции.

В идеале методы анализа должны быть, как минимум, полуколичественными и способными продемонстрировать корреляцию исследуемого параметра с предполагаемым терапевтическим эффектом. Такие анализы не всегда подходят для проведения при выпуске ГП, когда время тестирования может быть ограничено. Для демонстрации биологической активности продукта лучше проводить функциональные тесты *in vivo* при разработке препарата и в доклинических исследованиях (ДКИ) [37].

Определение иммуномодулирующего потенциала МСК является наиболее часто используемым исследованием эффективности препаратов, применяемых для лечения воспалительных процессов, аутоиммунных заболеваний (например, системная красная волчанка и остеоартрит) и РТПХ [38]. Механизм, с помощью которого МСК оказывают общий иммуномодулирующий эффект, включает в себя создание иммунной толерантности и регуляцию функций В- и Т-клеток, а также регуляторных Т-клеток (Treg) [39]. Комитетом по мезенхимальным и тканевым стволо-

вым клеткам (Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee) Международного общества клеточной терапии (The International Society for Cellular Therapy, ISCT) разработаны рекомендации по проведению исследований иммуномодулирующей функции МСК [7, 40]. Так, рекомендовано проведение *in vitro* теста на ингибирование пролиферации Т-лимфоцитов. В работе М. Najar и соавт. [41] иммуномодулирующее действие МСК на Th1-, Th17-клетки и регуляторные Treg-клетки определяли путём совместного культивирования МСК с мононуклеарной фракцией периферической крови человека. После сокультивирования клетки анализировали методом проточной цитометрии, при внутриклеточном окрашивании IFN- γ и IL-17A флуоресцентными красителями. МСК заметно ингибировали пролиферацию мононуклеарных клеток периферической крови и подавляли активацию и дифференцировку CD4+ Т-клеток в субпопуляции Th1 и Th17. Кроме того, МСК способствуют созреванию субпопуляции Treg-клеток, индуцированному IL-2. В целом, МСК могут снижать развитие воспаления за счёт прямой и опосредованной иммуnoreгуляторной активности Treg-клеток и моноцитов [41, 42].

В соответствии с рекомендациями Комитета по мезенхимальным и тканевым стволовым клеткам ISCT подлинность МСК, прежде всего, подтверждается их способностью к самообновлению (высокой пролиферативной активностью), мультипотентностью (дифференцировкой в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях), адгезивным характером роста на пластике и экспрессией специфических маркеров (CD73, CD90, CD105), при отсутствии экспрессии CD 45, CD34, CD14 или CD11b, CD79a или CD19 и HLA-DR [7].

Для исследования подлинности необходимо использовать несколько поверхностных клеточных маркеров, указывающих на данный тип клеток, способность к дифференцировке и/или исследования функциональной активности [37], так как каждый отдельный показатель может варьировать у разных популяций клеток. Так, например, С. L. K. Rebelatto и соавт. [43], составили исчерпывающий фенотип МСК ПК: CD90 (99,82%±0,192), CD105 (98,42%±0,654), CD73 (96,78%±0,76) и CD29 (99,12%±0,409) при отсутствии экспрессии CD14 (1,732%±0,15), CD19 (0,934%±0,331), CD34 (0,308%±0,147), CD45 (0,262%±0,188), и HLA-DR (1,286%±0,588) [43, 44] Другие исследования также подтверждают присутствие поверхностных маркеров CD73, CD90, CD105 и отсутствие CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, при низком содержании CD19- и HLA-DR-положительных клеток (не более 2%) у МСК ПК [45]. По клеточной морфологии и с помощью цитохимических методов окрашивания ряд исследователей подтвердили возможность дифференцировки МСК ПК в трёх направлениях: в адипоциты, остеобласты и хондроциты. Адипоциты идентифицировали по наличию характерных липидных вакуолей в клетках, положительно окрашиваемых красителем Oil Red O; идентификацию остеобластов осуществляли по наличию отложений кальция, окрашиваемых ализарином Red S; а хондробластов — по наличию лакун вокруг молодых хондроцитов и протеогликана в матриксе. Стоит отметить, что авторы провели количественную оценку потенциала дифференцировки МСК [43, 46, 47].

Вариабельность МСК. Одной из существенных проблем при разработке продуктов на основе МСК является большая их вариабельность в зависимости от источников получения [48]. МСК из различных источников демонстрируют разные профили поверхностных маркеров, экспрессируемых генов, потенциал дифференцировки, а также иммуномодулирующие и паракринные свойства [49]. Например, было показано, что МСК из Вартонова студня обладают более сильным иммуномодулирующим потенциалом, чем МСК из КМ [50]. Также было показано, что МСК ПК и МСК из Вартонова студня обладают сниженным потенциалом адипогенной дифференцировки [43, 51, 52].

Другими факторами, влияющими на вариабельность клеток, является физическое состояние и здоровье донора [53, 54]. Экспрессия TF/CD142 (тканевого фактора, тромбопластина) у МСК — фактора свертывания крови III, согласно данным иммунологического исследования, составляет в среднем 82,96%, и между разными донорами наблюдается значительная вариабельность: 76,7–92,2%. Уровень экспрессии фактора имеет большое значение при выявлении потенциального риска тромбоэмболических осложнений при

внутривенной инфузии МСК. Вариабельность экспрессии фактора возникает в результате различных условий культивирования и индивидуальных особенностей доноров [55].

Большое значение оказывает и технологический процесс, начиная от стадии выделения МСК из биоматериала. Y. Mori и соавт. [56] показали, что протокол ферментативной дезагрегации клеток увеличивает скорость их восстановления с сохранением большего числа жизнеспособных клеток. В некоторых работах было показано, что метод прямого эксплантата позволяет выбрать фракцию клеток с более высоким пролиферативным потенциалом [57].

Вариабельность исходного материала и изменчивость свойств, связанных с процессом выделения клеток, является проблемой при разработке и производстве препаратов на основе МСК, и, поэтому, стандартизация производства и внутрипроизводственный контроль, позволяют снизить риски получения препарата ненадлежащего качества.

С целью снижения вариабельности свойств МСК, клетки от разных доноров при производстве аллогенных препаратов могут быть объединены с образованием пула донорских клеток, что приводит к снижению вариабельности между сериями готового продукта. Так препарат Stempeucel, зарегистрированный в Индии, производится с использованием пула клеток от трёх доноров (допускается и объединение материала от большего числа людей) [58]. Производителем указывается, что использование пула донорских клеток не только нивелирует различия в свойствах клеток между донорами, но и позволяет получить продукт с более выраженным иммуномодулирующим эффектом, широким спектром цитокинов и факторов роста, секретлируемых МСК, и большей жизнеспособностью клеток [26]. В литературе описаны исследования, демонстрирующие сопоставимые показатели по скорости пролиферации, жизнеспособности и потенциалу дифференцировки пулированных клеток с образцами клеток, полученных от отдельных доноров, при этом донор-зависимая изменчивость компенсируется [59, 60]. Есть примеры КИ по применению пула объединённых от разных доноров МСК. Например, КИ NCT04382547, NCT04184258, направленные на лечение пневмонии, ассоциированной с COVID-19 (NCT04382547) и системной красной волчанки (NCT04184258), соответственно [61].

При всех перечисленных достоинствах использование пулированного материала вызывает некоторые опасения, которые в первую очередь, касаются возможности перекрёстного загрязнения всего пула клеток инфекционными агентами от материала, полученного от одного или нескольких доноров. В Руководстве по качеству и безопасности тканей и клеток для применения у человека, опубликованном Европейским директором по

качеству ЛС (European Directorate for the Quality of Medicines, EDQM) [62] приведены следующие рекомендации, касающиеся использования в производстве препаратов тканевой инженерии пула донорских клеток:

— во избежание перекрёстного загрязнения инфекционными агентами ткани или клетки одного донора не должны контактировать с тканями или клетками другого донора в процессе производства или при хранении, за исключением случаев, когда они намеренно подвергаются объединению;

— объединение различных тканей и клеток от двух или более доноров должно осуществляться только в том случае, если было доказано, что это единственный способ обеспечения достаточного количества тканей или клеток для достижения клинического эффекта, и подлежит всесторонней оценке отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения такого препарата;

— в случае объединения в процессе производства материала, полученного от разных доноров, должна быть проведена оценка риска перекрёстного загрязнения инфекционными агентами;

— объединённые ткани или клетки следует рассматривать как одну партию, обеспечивая при этом полную прослеживаемость исходного материала.

Особенности использования донорского материала

Риск развития гиперчувствительности и аллореактивности, исследования иммуногенности. МСК считаются перспективными кандидатами для разработки аллогенных препаратов, поскольку они могут быть получены из легкодоступных источников биопсийного материала, не требующих инвазивных методов получения, обладают высокой пролиферативной активностью, и их использование не вызывает этических возражений. Кроме того, считается, что МСК слабо иммуногенны, следовательно, не вызывают аллореактивности иммунной системы пациента при использовании аллогенных клеток, что и было продемонстрировано в ряде исследований [51, 63].

Однако сохраняется риск развития гиперчувствительности и аллореактивности к отдельным компонентам препарата, например, примесным клеткам, эмбриональной бычьей сыворотке (Fetal Bovine Serum, FBS), остаткам антибиотиков, сывороточному альбумину человека (Human Serum Albumin, HSA), гепарину, коллагеназе и другим реактивам, особенно ксеногенного происхождения. Использование сред с добавлением FBS является золотым стандартом для ведения клеточных культур и разрешено для клинического использования, однако присутствие белков животного происхождения может вызвать иммунный ответ [64].

Были опубликованы данные по развитию пирексии у одного пациента, получившего лечение

препаратом Alofisel, при этом у 72,7% пациентов наблюдался ответ со стороны иммунной системы в виде образования антител, у 56,3% пациентов антитела сохранялись до 24 нед., а у 18,7% пациентов — до 52 нед. после введения препарата. Кроме того, у 27,3% первично несенсибилизированных пациентов антитела появлялись к 24 нед. В связи с этим, экспертами PMDA было рекомендовано указывать возможность развития аллергической реакции при применении подобных препаратов в инструкции по применению, а также соблюдать осторожность при использовании продукта у пациентов с гиперчувствительностью [21].

Риск передачи инфекций и вирусная безопасность. Во всех документах, предоставленных национальным регуляторным органам для регистрации аллогенных препаратов, есть указание на проведение скрининга доноров, с отбором здоровых доноров, отвечающих требованиям ряда законодательных документов. Скрининг доноров заключается в проведении медицинского осмотра, изучении анамнеза, истории инфекционных заболеваний и опыта посещения инфекционно-опасных стран [65–67]. При этом осуществляются иммунологические (ELISA) и ПЦР тесты периферической крови доноров (до получения биопсийного материала) с целью выявления ряда инфекций: вируса иммунодефицита человека типа 1 и 2 (HIV-1 и HIV-2 соответственно), антител и антигенов к вирусу гепатита В и С (HBV и HCV соответственно), Т-лимфотропного вируса человека (HTLV-1 и HTLV-2), бледной трепонемы, парвовирусной инфекции В19, а в Японии также *Tyranosoma cruzi* — возбудителя болезни Шагаса [23, 24]. Чтобы исключить возможность получения ложноотрицательного результата тестирования в инкубационный период, через 3 мес. после донорства биоматериала рекомендуется проводить повторные серологические исследования [68].

Указывается и возможный риск передачи трансмиссивной губчатой энцефалопатии (ТГЭ) пациенту через донорский материал, однако подобный риск считается минимальным в связи с отбором клеток из тканей (в большинстве случаев КМ или ЖТ), в которых прионные белки не накапливаются, тщательной проверкой доноров (согласно данным FDA более высокий риск несёт биоматериал, полученный от доноров из Англии, Ирландии и Франции), а также местном применении (ряд продуктов) [69]. Как правило, риск передачи ТГЭ всегда оказывается ниже медицинской потребности в этой группе препаратов в связи со значимостью заболеваний, для лечения которых они применяются.

Кроме инфекционных заболеваний доноры МСК также не должны иметь злокачественных новообразований, психических и рефрактерных хронических заболеваний [45].

Риск туморогенеза. К факторам риска, характерным для использования в терапевтических целях живых клеток, можно отнести возможность развития хромосомной нестабильности и, как следствие, туморогенности при длительном их культивировании, а также использовании фидерных клеток и биологически-активных веществ, например, факторов роста при производстве препарата. Есть данные, показывающие, что для МСК вероятность возникновения хромосомных аномалий при культивировании составляет около 4% [70]. С целью выявления туморогенного потенциала МСК могут проводиться исследования кариотипа, теломеразной и пролиферативной активностей клеток [37] и исследования *in vivo* на мышцах с иммунодефицитом [45]. Например, кариотипирование чаще всего осуществляют с использованием G-окрашивания метафазных хромосомных пластинок красителем Гимзы. При этом метафазные пластинки должны иметь нормальный диплоидный кариотип с отсутствием клональных хромосомных аномалий. Также генетическую стабильность можно подтвердить и с помощью анализа интерфазных ядер с помощью микроядерного теста. Число ядер исследуемого образца с генетическими аномалиями, такими как, например, нуклеоплазматические мосты, микроядра, ядерные почки/протрузии не должно превышать такового в контрольном образце [43, 71, 72]. В работах S. Sharma и соавт. [73, 74] было показано наличие большего количества микроядер и других генетических аномалий в клетках опухолевой линии HeLa (положительный контроль), по сравнению с клетками МСК ПК. Кроме того, МСК ПК содержали меньшее количество ядерных аномалий, чем МСК, полученные из плаценты человека, даже если они были получены от одного и того же донора. Анализ туморогенности *in vivo* заключается в подкожном введении иммунодефицитным мышам исследуемых МСК и клеток положительного контроля с последующей регистрацией образования опухолевых узелков в течение 4 мес. У мышей, выведенных из эксперимента, осуществляют забор органов (сердце, селезёнка, печень, лёгкие, почки, мышцы, кожа, матка, яичники и семенники) для проведения гистологического исследования с окрашиванием гистологических срезов гематоксилин-эозином [45].

Для подтверждения отсутствия злокачественной трансформации и туморогенного потенциала клеток, как правило, используют анализ образования колоний в мягком агаре, демонстрирующий способность клеток расти *in vitro* вне зависимости от наличия адгезии (свойство опухолевых линий клеток — пролиферировать без прикрепления к внеклеточному матриксу и в отсутствии межклеточных контактов) [43].

В целом, для рассмотренных выше зарегистрированных препаратов на основе МСК риск ту-

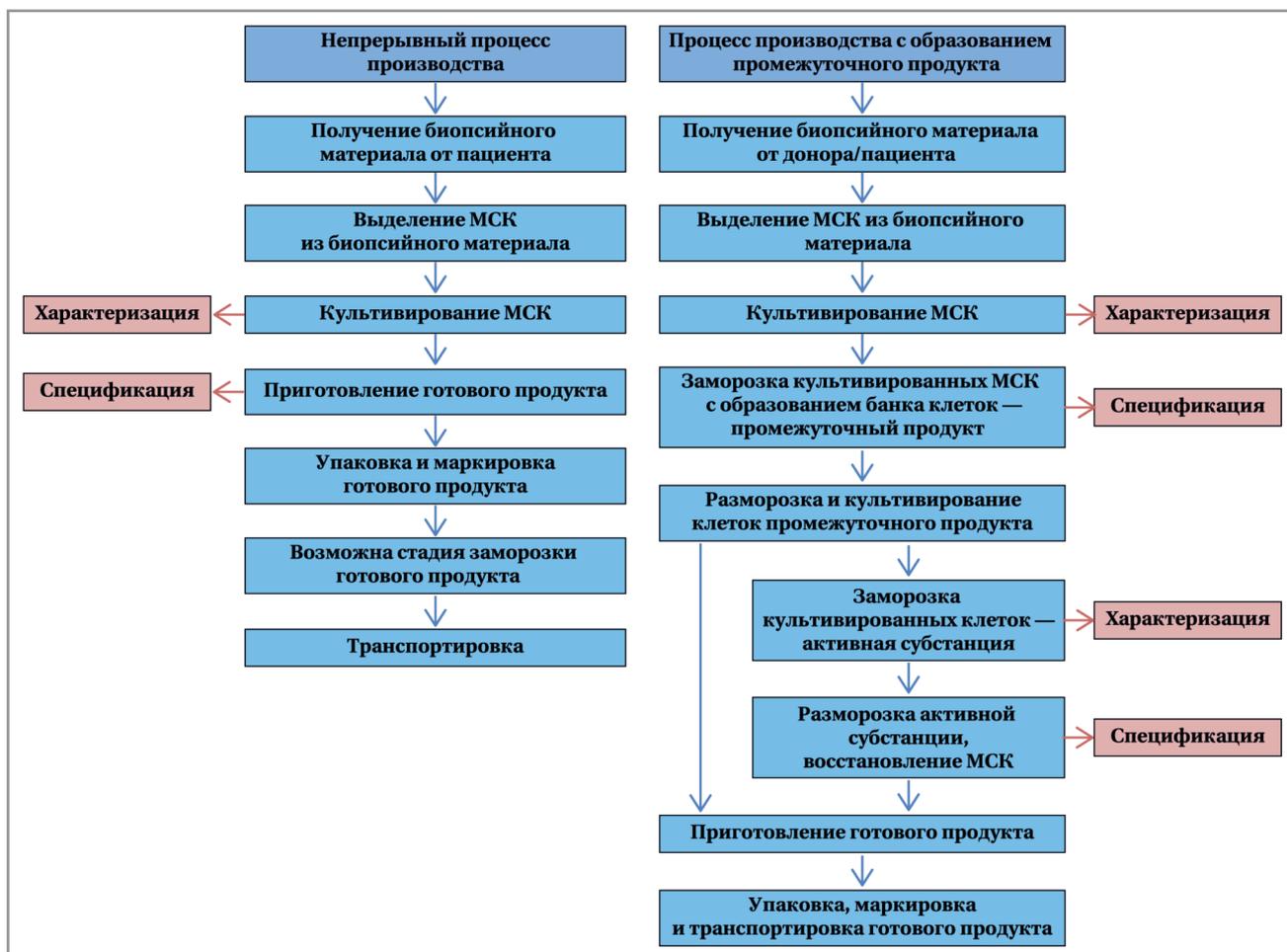
морогенности, по данным производителей, был определён как минимальный. Лишь при проведении КИ (данные из постмаркетингового отчёта) по применению Alofisel был выявлен один случай возникновения неоплазии — псевдополипа прямой кишки через 1 год и 10 мес. после введения препарата. Однако образование неоплазии признано следствием развития заболевания, а не применения препарата. Тем не менее, считается, что процедура введения препарата может стать причиной инициации онкогенеза в тканях, затронутых патологическим процессом и предрасположенных к злокачественной трансформации. В отчёте указывается и возможный риск образования эктопической ткани из клеток самого препарата [21].

Особенности производственного процесса препаратов, содержащих МСК

Процесс производства препаратов на основе МСК человека должен осуществляться в условиях, установленных действующими рекомендациями Надлежащей производственной практики (Good Manufacturing Practice, GMP) [75]. В законодательстве ЕАЭС в настоящее время разрабатываются требования к производству ВТЛП, в том числе соматотерапевтических, гармонизированные с требованиями к производству препаратов передовой терапии в ЕС [76].

Процесс производства препаратов на основе МСК может быть как непрерывным, происходящим без заморозки клеток в процессе культивирования и образования промежуточных продуктов, требующих характеристики и/или составления отдельной спецификации, так и осуществимым с образованием промежуточных продуктов (рисунок). Непрерывный процесс производства характерен только для производства аутологичного продукта, когда весь объём культивируемых клеток выделен из биопсийного материала пациента и будет введен ему обратно.

Производство аутологичного препарата может также осуществляться с образованием промежуточного продукта и/или активной субстанции в случае, если имеется стадия заморозки культивированных клеток, а формирование готового продукта отсрочено во времени. При получении препаратов для аллогенного применения технологический процесс всегда будет производиться, как минимум, с образованием одного промежуточного продукта — замороженных донорских клеток и созданием банка клеток на их основе, что позволяет производить препарат для нескольких пациентов из охарактеризованного материала от одного донора или из одного пула донорских клеток. Также возможно прерывание технологического процесса на стадии образования активной субстанции, которая может быть заморожена и использована для получения в дальнейшем готового продукта.



Схемы производственных процессов препаратов, содержащих МСК, с непрерывным циклом производства и циклом с образованием промежуточного продукта.

Schemes of production processes of preparations containing MSC, with a continuous production cycle and a cycle with the formation of an intermediate product.

Далее стоит обратить внимание на несколько особенностей производственного процесса препаратов, содержащих МСК, которые оказывают влияние на выбор подходов к осуществлению контроля качества этих продуктов.

1. Использование в процессе производства материалов биологического происхождения. Контроль всех исходных материалов и реактивов осуществляется по принципу входного контроля сертификатов анализа, получаемых от репрезентативных поставщиков. В правилах GMP указано, что реагенты животного происхождения должны быть проверены на наличие специфических вирусов [77, 78]. Так, FBS, широко используемую для культивирования МСК и получаемую из крови эмбрионов здоровых животных Новой Зеландии и Австралии, подвергают γ -облучению с целью инактивации патогенов, тестируют на наличие вирусов крупного рогатого скота (вирус диареи крупного рогатого скота, вирус парагриппа крупного рогатого скота, бычий парвовирус, бычий аденовирус и реовирус), бактериальных эндотоксинов, стерильность и микоплазму [45]. Также материалы,

полученные от крупного рогатого скота, должны оцениваться на риск передачи ТГЭ [11, 79].

При производстве других материалов биологического происхождения, например гепарина, получаемого из слизистой оболочки кишечника свиней, также осуществляется инактивация и удаление вирусов. Гепарин в комплексе с HSA используется в качестве антикоагулянта, и разрешён к применению в медицинских целях как ЛС [80, 81]. Сам HSA получают только от доноров, проверенных с помощью ПЦР и серологических тестов на ряд инфекций (HBV, HCV, HIV-1, HIV-2 и другие инфекции). Трипсин, применяемый для ферментативной дезагрегации клеток, в виде порошка или раствора с EDTA (этилендиаминтетрауксусной кислотой) тоже подвергают γ -облучению и проверяют на наличие парвовируса свиней, бактериальные эндотоксины, стерильность и микоплазму [23].

Удаление из ГП компонентов, имеющих ксенотенное происхождение, считается необходимым. Также разработчики продукта должны продемонстрировать отсутствие возможных альтернатив-

ных способов приготовления препарата без использования этих реагентов.

2. Культивирование МСК с образованием промежуточного продукта, банки клеток. Поддержание клеток в культуре в течение любого периода времени оказывает селективное давление на клетки, отличное от условий *in vivo*. В процессе культивирования клетки могут накапливать генетические мутации и эпигенетические модификации, изменения в потенциале дифференцировки и функциональных особенностях, что может стать причиной возникновения нежелательных побочных реакций или снижения эффективности препарата [82]. Поэтому культивирование клеток относится к существенным манипуляциям, производимым с клетками [13].

Необходимость в культивировании МСК для производства требуемой дозы препарата усложняет задачу создания популяции клеток со стабильными характеристиками. Так, A. Vanfi и соавт. [83] исследовали кинетику роста и потенциал дифференцировки МСК, используя клетки, полученные от разных доноров, с начала культивирования и до пятого пассажа, и показали резкое снижение функциональной активности МСК с течением времени. Другие исследования подтвердили этот факт, продемонстрировав снижение пролиферативной активности, эффективности колониеобразования, длины теломер и способности к дифференцировке с увеличением продолжительности культивирования [84]. В зависимости от числа пройденных пассажей различается и секретом клеток [85]. При этом на разных стадиях культивирования в популяции МСК отмечается склонность к клонообразованию, которая со временем культивирования постепенно снижается, при этом число клонов в популяции клеток заметно снижается к более поздним пассажам, стабилизация гетерогенности популяции в процессе культивирования происходит посредством доминирования одного или нескольких клонов [85]. Кроме того, на сохранение клетками функциональной активности большое влияние оказывает не только продолжительность, но и условия культивирования, которые, как правило, значительно отличаются от реальных условий микроокружения МСК в живом организме [86, 87].

Культивирование клеток, выделенных из биопсийного материала доноров (при производстве аллогенных препаратов), зачастую, не является непрерывным процессом, приводящим к получению готового продукта — единственного продукта, образующегося в результате технологического процесса. Так, в описании технологического процесса производства препарата для аллогенного применения — Alofisel — указывается стадия криоконсервации культивируемых МСК с образованием Главного банка клеток (Master Cell Stock, MCS). Замороженные клетки являются промежу-

точным продуктом в процессе производства активной субстанции Alofisel [20].

Для криоконсервированных или иным образом хранящихся продуктов требуется определять любое влияние краткосрочного или длительного хранения на эффективность и стабильность продукта [11]. Замороженные МСК должны быть охарактеризованы, паспорт на них включает такие показатели качества, как жизнеспособность клеток, активность, подлинность, стерильность [20]. Клетки из MCS по мере необходимости изымают, размораживают и культивируют до получения необходимой дозы для конкретного пациента, при этом не превышая лимит культивирования, установленный нормативными документами и руководствами.

Образование промежуточного продукта предусматривается производством и другого аллогенного продукта — Temcell. Из замороженных после культивирования МСК также создан банк клеток, обозначенный в экспертном отчёте регулирующего органа Японии как Банк донорских клеток (Donor Cell Bank, DCB). Клетки DCB, как и в случае с MCS, используются для последующей наработки требуемой дозы (Product dose). В табл. 2 представлена спецификация, некоторые показатели качества и методы испытаний клеток из DCB.

При характеристике активности культивируемых МСК препарата Stemirac дополнительно проводился анализ секреции нейротрофических факторов: с помощью метода ELISA оценивали уровень секреции гуморальных факторов, а RT-PCR — уровень экспрессии их генов [24].

MCS и DCB, в целом, являются аналогами MCB в двухуровневой системе банков клеток, широко используемых при производстве биологических препаратов (например, банки перевиваемых клеток при производстве иммунобиологических препаратов или банки клеток, используемых для сборки вирусных векторов), однако отличаются от них тем, что замороженные клетки не являются постоянным источником получения готового продукта, а периодически образуются из материала нового донора (доноров). Как следствие, отсутствует вторая часть двухуровневой системы банков клеток — Рабочий банк клеток (Work Cell Bank, WCB).

В классическом понимании двухуровневая система банков клеток (MCB и WCB) образована на производстве индийского препарата Stempeucel, что, видимо, становится необходимым условием производства препарата при использовании пула клеток от нескольких доноров. При этом в MCB отдельно хранятся клетки, полученные от каждого донора, на первом пассаже культивирования. Объединение донорского материала (до пяти и более доноров, предпочтительно до трёх доноров) происходит после разморозки из MCB с последующим

Таблица 2. Некоторые показатели качества и методы анализа, представленные в спецификации на клетки Банка донорских клеток, (адаптировано с [23])**Table 2. Some quality indicators and analysis methods presented in the specification for the cells of the Donor Cell Bank (adapted from [23])**

Показатели качества	Контролируемые признаки	Методы анализа	
Подлинность	Морфологический анализ: размер и форма клеток, плотность монослоя в культуре	Микроскопия	
	Видоспецифичная принадлежность клеток	Изоферментный анализ	
	Фенотип клеток: присутствие антигенов CD44, CD73, CD90, CD105, CD166; отсутствие антигенов CD34, CD40, CD45, CD80, CD86	Проточная цитометрия	
	Способность к дифференцировке в клетки мезодермальной линии	Анализ потенциала дифференцировки	
	Анализ экспрессии молекул, участвующих в иммуногенности: отсутствие МНС класса II, незначительная экспрессия МНС класса I	Проточная цитометрия	
Безопасность	Хромосомный анализ: отсутствие хромосомных аномалий, в том числе характерных для гематологических злокачественных новообразований	G-бэндинг mFISH	
	Злокачественная трансформация и туморогенный потенциал	Образование колоний в мягком агаре	
	Бактериальные эндотоксины	Хромогенный тест	
	Стерильность	Прямой посев на питательные среды	
	Микоплазма		Культуральный метод
			Метод индикаторных клеточных культур
			Электронная микроскопия
			Электронная микроскопия; ПЦР; исследования <i>in vitro</i> (цитопатические изменения на клетках Vero, MRC5 и Hs68, реакция гемагглютинации, гемадсорбция); <i>in vivo</i> исследования
	Вирусы — контаминанты		
	Вирус иммунодефицита человека-1, HIV-1		
	Вирус иммунодефицита человека-2, HIV-2		
	Вирус Т-клеточного лейкоза человека, HTLV-1/2		
Герпесвирус человека 6, HHV-6			
Герпесвирус человека 8, HHV-8			
Вирус гепатита В, HBV			
Вирус гепатита С, HCV			
Парвовирус человека B19, B19V			
Цитомегаловирус, CMV			
Вирус Эпштейна–Барр, EBV			
Папилломавирус человека, HPV			
Активность	Секретом: например, простагландин E2, PGE2	ELISA (белки) RT-PCR (гены)	
	Концентрация клеток	Микроскопия и расчётный метод	

Примечание. mFISH — многоцветная флуоресцентная гибридизация *in situ*; МНС — молекулы главного комплекса гистосовместимости.

Note. mFISH — multicolor fluorescence *in situ* hybridization; МНС — molecules of the main histocompatibility complex.

культивированием и криозаморозкой клеток на третьем пассаже с целью создания WCB [58].

3. Характеризация активной субстанции.

Субстанция, которая образуется в момент прерывания технологического процесса и на которую, как правило, оформляется отдельная спецификация с установленными показателями качества, может именоваться по-разному: активная субстанция (АС) [20, 21], доза [23], активный ингредиент/лекарственная субстанция [22]. Прерывание технологического процесса, в результате которого образуется АС, при производстве препаратов, содержащих МСК, проводится с целью заморозки клеток. Как видно из рисунка,

такая стадия производства может отсутствовать, и из культивируемых клеток сразу может формироваться ГП. Однако для большинства препаратов характерно образование АС, которую можно хранить длительное время в замороженном виде, что даёт возможность формировать ГП непосредственно перед его применением, это актуально в связи с незначительным сроком хранения/применения ГП.

Характерной особенностью производства АС всех зарегистрированных в мире препаратов на основе МСК является отсутствие стандартов и эталонных образцов. Спецификации на АС у разных препаратов могут содержать исследования сле-

дующих структурных и функциональных особенностей МСК [20–24]:

— Морфология клеток (в том числе размер клеток).

— Фенотип клеток (например, для препарата Prochymal характерны поверхностные маркеры CD45-; CD105+; CD166+). Основной метод анализа — проточная цитометрия.

— Кинетика роста клеточной культуры.

— Адгерантность клеток на пластике.

— Жизнеспособность.

— Способность к дифференцировке. Подтверждение мультипотентного потенциала дифференцировки в клетки мезодермальной линии (остеобласты, остеоциты, хондроциты). Для МСК, культивируемых с целью производства препарата Stemirac, дополнительно подтверждался потенциал дифференцировки в клетки нервной ткани.

— Иммунная регуляция (экспрессия биологически активных молекул, влияющих на иммунные функции и обладающих противовоспалительными свойствами, способность ингибирования пролиферации Т-лимфоцитов). МСК должны экспрессировать Toll-подобный рецептор (TLR) 1/3/4 и 6, при отсутствующей экспрессии TLR2/5/7/8/9 и 10. При соответствующей стимуляции МСК экспрессируют гены и белки интерлейкинов (IL) 6 и 8, а также моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 (MCP-1). Для АС препарата Temcell проводили анализ ингибирующего действия на пролиферацию Т-лимфоцитов из периферической крови человека, осуществляемого посредством секретируемых МСК простагландина E2 (PGE2) и индоламина 2,3-диоксигеназы (IDO). При этом наблюдалось снижение ингибирующей активности МСК в присутствии ингибиторов синтеза PGE2 и IDO и увеличение её при добавлении IFN- γ и агониста TLR3 или TLR4, приводящего к зависимому от концентрации повышению содержания IDO.

— Регенеративная и репаративная активности. Анализ экспрессии рецепторов, связанных с миграционной способностью, генов и белков клеточной адгезии: интегринов альфа-4 и β 1 (ITGA4 и ITGB1 соответственно), матриксных металлопротеиназ-2 и -14 (Matrix Metalloproteinase, MMP), хемокинового рецептора 4 (CXCR4). Возможно проведение тестов *in vitro* в присутствии FBS, ингибиторов тромбоцитарного фактора роста (PDGF), инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1), MMP. Основной метод анализа — РВ-ПЦР.

— Анализ экспрессии молекул, участвующих в иммуногенности (при аллогенном использовании клеток): отсутствие экспрессии молекул Главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, МНС) класса II, незначительная экспрессия МНС класса I.

4. Оценка качества готового препарата при выпуске. Как и в случае с АС в экспертных отчётах

на препараты, имеющиеся в открытом доступе, указывается отсутствие стандартов и эталонных образцов ГП.

Основные требования к наполнению спецификации на ГП включают такие показатели качества, как подлинность, чистота, стерильность, активность/эффективность продукта [11]. Перечень всех показателей качества, которые были включены в спецификации на ГП, предоставленные для регистрации с целью получения разрешения на коммерческое использование, приведены в табл. 3. Следует отметить, что список содержит только показатели качества, предоставленные для открытого доступа, а значит, может быть неполным.

В табл. 3 для препарата Stemirac приведены показатели качества, входящие в спецификацию на первичную составную часть (primary constituent part) ГП, содержащую суспензию аутологичных МСК КМ. Производитель также предоставляет и спецификацию на вторичную составную часть (secondary constituent part) ГП, которая содержит набор для забора крови (Blood Collecting Kit), набор для забора КМ (Bone Marrow Collecting Kit) и разбавитель КМ DMEM (Bone Marrow Diluent DMEM). Спецификация на вторичную составную часть включает такие показатели качества, как описание/внешний вид, бактериальные эндотоксины, стерильность, собранный объём материала, инородные нерастворимые соединения, нерастворимые твёрдые частицы.

Каждая партия препарата для клинического применения должна пройти тестирование при выпуске. Поскольку продукт проходит подтверждение качества на критических стадиях производства, допускается, чтобы анализ ГП был упрощён и состоял из быстро выполняемых методов, например, тестирования по показателям качества: стерильность, микоплазма, бактериальные эндотоксины, количество клеток и жизнеспособность [45]. В связи с небольшим сроком хранения/применения препарата допускается оценка ряда показателей качества в процессе производства. Так, в спецификации на ГП Alofisel, указывается, что часть испытаний осуществляется на последних стадиях производства вследствие ограниченного срока годности на ГП, который составляет 72 ч. При этом допускается возможность отсутствия результатов заключительных тестов на стерильность и микоплазму на момент выпуска препарата. Результаты тестирования на наличие микоплазменной контаминации становятся доступны до введения препарата пациенту, тогда как результаты тестирования на стерильность — уже после введения. Таким образом, подтверждение стерильности препарата является обязательным на предыдущих стадиях производства в рамках внутрипроизводственного контроля.

Таблица 3. Показатели качества, включаемые в спецификацию на ГП (составлено по [20–24])
Table 3. Quality indicators included in the GP specification (compiled according to [20–24])

Показатели качества	Alofisel EMA	Alofisel PMDA	Temcell PMDA	Prochymal TGA	Stemirac PMDA
Описание/внешний вид	—	+	+	+	+
Подлинность	+	Н. д.	+	+	+
Чистота	+	Н. д.	+	+	Н. д.
Содержание FBS и трипсина	Н. д.	Н. д.	+	+	Н. д.
Жизнеспособность	—	+	+	+	Н. д.
Активность	+	Н. д.	Н. д.	+	Н. д.
Бактериальные эндотоксины	—	+	+	+	+
Стерильность	—	+	+	+	+
Микоплазма	—	+	+	+	+
Концентрация клеток/доза	—	+	+	—	Н. д.

Примечание. * — Показатель качества «Жизнеспособность» определяется после разморозки готового продукта; Н. д. — нет данных.

Note. * — The quality indicator «Viability» is determined after defrosting of the finished product; Н. д. — no data available.

Контролю качества стволовых клеток в составе препаратов особое внимание за последние годы было уделено в Китае, где все стволовые клетки применяются без регистрации в рамках медицинских технологий. В 2020–2021 гг. регуляторный орган Китая выпустил два Руководства, содержащих набор руководящих принципов, касающихся требований к показателям качества и испытаниям эмбриональных стволовых клеток и МСК человека [88, 89]. Данные руководства были согласованы с экспертами Китайского общества исследования стволовых клеток (China Society for Stem Cell Research). Руководство для МСК человека распространяется также и на МСК, полученные в результате дифференцировки или трансдифференцировки (т. е. на индуцированные плюрипотентные стволовые клетки) и содержит перечень основных показателей качества, описания методик их определения и интерпретации результатов (табл. 4).

Для анализа ГП из одной и той же партии случайным образом отбираются три единицы упаковки. Каждая партия продукции перед выпуском должна быть подвергнута оценке качества по всем показателям из табл. 4 с оформлением сертификата качества.

5. Образование примесей в АС и ГП. Как и для любых других ВТЛП при производстве препаратов, содержащих МСК, есть риск образования двух типов примесей: родственных продукту и связанных с процессом производства.

Так есть вероятность попадания в АС таких примесей, связанных с процессом производства, как антибиотики (пенициллин, сульфат стрептомицина, гентамицин), трипсин, FBS и другие вещества [21]. Особое значение имеет подтверждение присутствия в ГП минимального количества реагентов животного происхождения. Большую часть из этих соединений, в том числе антибиотики, удаляют (стадия промывки) из продукта по технологии производителя, а остатки FBS оценивают при определении бычьего сывороточного альбумина (BSA) — компонента FBS с помощью

ИФА [23]. Так для Temcell указывается возможность содержания в ГП FBS и трипсина. Тестирование на остаточный гепарин не проводится вследствие содержания его в продукте ниже уровня чувствительности ИФА. Кроме того, гепарин разрешён к медицинскому применению и обладает доказанной в ДКИ и КИ безопасностью [23]. При анализе содержания примесей в АС и включению их определения в спецификацию на АС, в ГП данные примеси могут уже не анализироваться [21].

Поскольку продукты стволовых клеток могут состоять из гетерогенных популяций клеток, важно чётко выявлять и количественно определять «целевые» клетки, ответственные за биологическую активность продукта, а также другие «нецелевые» клеточные популяции, которые относятся к примесям, родственному продукту [11]. Нечеловеческими клетками могут быть клетки одной или разных линий, частично или полностью дифференцированные, например фибробласты — тип клеток фенотипически близкий к МСК. Для количественного определения «целевых» и «нецелевых» популяций клеток в продукте используют методы фенотипического профилирования (например, анализ FACS) [48]. К примесям, родственному продукту, относят также нежизнеспособные клетки и детрит. Содержание примесных клеток контролируется и поддерживается в приемлемом диапазоне с помощью внутрипроизводственного контроля и тестирования ГП.

Следует отметить, что в экспертных отчётах на зарегистрированные препараты вирусы и другие занесённые/посторонние агенты тоже могут рассматриваться как примеси [22].

Целью исследования на чистоту должно быть достижение в препарате максимально возможного количества активных компонентов и минимизация компонентов, которые могут отрицательно повлиять на его терапевтическую активность/безопасность. При этом чистота не обязательно означает однородность продукта. Ожидается, что

Таблица 4. Контроль качества МСК человека (составлено по [88])
Table 4. Quality control of human MSCs (compiled according to [88])

Характеристика/ показатель качества МСК	Методы анализа	Нормы ГП при выпуске
Морфологический анализ	Микроскопия	Клетки должны обладать способностью к адгезивному росту на пластике, иметь фибробластоподобную (веретенообразную) однородную морфологию.
Кариотип	Фармакопея Китая (Pharmacopoeia of the People's Republic of China)	Нормальный кариотип 46, XX или 46, XY.
Жизнеспособность	Микроскопия	Жизнеспособность клеток $\geq 90\%$ до криоконсервации и $\geq 70\%$ после размораживания
Маркеры клеточной поверхности	Проточная цитометрия	Экспрессия CD105, CD73 и CD90 в популяции клеток $\geq 95\%$, а экспрессия CD11b, CD19, CD31, CD34, CD45 и HLA-DR $\leq 2\%$
Иммунomodулирующая способность	ПЦР анализ; Проточная цитометрия	Экспрессия МСК индоламин-2,3-диоксигеназы после индукции факторами воспаления (IFN- γ или IFN- γ +TNF- α). Подавление пролиферации Т-клеток и секреции IFN- γ и TNF- α после совместного культивирования МСК с Т-клетками
Способность к дифференцировке	Окрашивание ализариновым красным (идентификация остеобластов); Окрашивание красителем Oil red O (идентификация адипоцитов); Окрашивание альциановым синим (идентификация хондроцитов)	Возможность дифференцировки МСК в остеобласты, адипоциты и хондробласты в стандартных условиях <i>in vitro</i>
Туморогенность	Тестирование <i>in vivo</i> (на животных с иммунодефицитом, например, мышах)	Клетки не должны вызывать развитие опухоли
Тестирование на микроорганизмы	Фармакопея Китая (том IV): 1101 Sterility Inspection Method 3301 Mycoplasma Inspection Method Национальные стандарты тестирования: — WS213 Diagnosis for hepatitis C. — WS273 Diagnosis for syphilis. — WS293 Diagnosis for HIV/AIDS. — T/CSCB 0001-2020 Общие требования для стволовых клеток (National Guide to Clinical Laboratory Procedures)	Клетки должны быть стерильными, не содержать микоплазм, вирусов HIV, HBV, HCV, HTLV, EBV, HCMV и TP
Аутентификация (внутри-производственный контроль)	Метод коротких tandemных повторов (STR)	Соответствие STR-профилей МСК и материала донора

Примечание. HIV — вирус иммунодефицита человека; HBV — вирус гепатита В; HCV — вирус гепатита С; HTLV — Т-лимфотропный вирус человека; EBV — вирус Эпштейна–Барр; HCMV — цитомегаловирус человека; TP — *Treponema pallidum*; IDO — индоламин 2,3-диоксигеназы; IFN- γ — интерферон гамма; NF- α — фактор некроза опухоли альфа; PCR — полимеразная цепная реакция; STR — метод коротких tandemных повторов.

Note. HIV — human immunodeficiency virus; HBV — hepatitis B virus; HCV — hepatitis C virus; HTLV — human T-lymphotropic virus; EBV — Epstein–Barr virus; HCMV — human cytomegalovirus; TP — *Treponema pallidum*; IDO — indoleamine 2,3-dioxygenase; IFN- γ — interferon gamma; TNF- α — tumour necrosis factor alpha; PCR — polymerase chain reaction; STR — short tandem repeat.

требования спецификаций на АС и ГП по чистоте будут установлены на основе результатов ДКИ и на этапе разработки препарата.

6. Невозможность стерилизации ГП. Бактерии или грибы могут являться контаминантами на всех этапах процесса производства: забора био-

логического материала, культивирования клеток, хранения и транспортировки.

Так как АС препаратов на основе МСК являются жизнеспособные клетки человека, стерилизацию АС или ГП, удаление инфекционных агентов или их инактивацию осуществить невозможно.

Процедуры по обеспечению безопасности в отношении занесённых/посторонних агентов производятся на стадии отбора доноров, серологического тестирования донорского биологического материала, входного контроля реактивов и расходных материалов, поддержания асептических условий, согласно требованиям GMP, на производстве, тестирования на присутствие занесённых/посторонних агентов при внутрипроизводственном контроле и на стадии получения ГП.

В ГФ РФ XIV и Фармакопее ЕАЭС рекомендовано проводить испытание на стерильность двумя методами: методом прямого посева и методом мембранной фильтрации [90, 91]. В работе Y. Xie и соавт. [45] изложена следующая альтернативная схема проведения исследования на стерильность, которая набирает всё большую популярность у производителей препаратов клеточной и генной терапии в связи с более короткими сроками проведения: инкубация надосадочной жидкости с использованием автоматического бактериологического анализатора BacT/ALERT Aerobic (Merieux, Франция) при 37°C в течение 7 дней. Данная система позволяет обнаружить аэробные и анаэробные бактерии, а также грибковое загрязнение [92–94]. Кроме того, перед выпуском ГП проводят окрашивание по Грамму в качестве дополнительного анализа стерильности. Существуют и другие альтернативные методы контроля микробиологической чистоты, прописанные в фармакопеех разных стран мира [95].

Для выявления микоплазменной контаминации разработано несколько методов анализа. Микробиологический (культуральный) метод и метод индикаторной клеточной культуры (цитохимический метод) с использованием флуоресцентного окрашивания ДНК являются классическими методами, рекомендованными ведущими Фармакопееми мира, в том числе ГФ РФ XIV и фармакопеей ЕАЭС. Однако вследствие длительного времени, требующегося для их проведения, данные методы не всегда подходят для проверки продуктов с небольшим сроком годности [96]. Метод ПЦР является альтернативным быстрым методом тестирования на микоплазму, поскольку он обладает высокой чувствительностью, специфичностью и простотой в использовании. Однако использование нефармакопейной методики анализа требует её валидации [97].

Свидетельством бактериальной инфекции является и обнаружение в продукте бактериальных эндотоксинов. Определение содержания бактериальных эндотоксинов может проводиться одним из шести методов, основанных на использовании реактива, представляющего собой лизат клеток крови (амебоцитов) мечехвоста *Limulus polyphemus* (ЛАЛ-реактив) или *Tachypleus tridentatus* (ТАЛ-реактив), который специфически реагирует с эндотоксинами [98, 99].

Тесты на стерильность и микоплазму на всех стадиях производства продукта должны быть отрицательными. Содержание бактериальных эндотоксинов, как правило, не должно превышать 0,5 EU/mL [43].

Заключение

Каждый соматотерапевтический ЛП, содержащий МСК, имеет уникальные биологические характеристики, обусловленные особенностями донорского материала, длительностью и условиями культивирования, наличием одной или нескольких стадий криоконсервации. Несмотря на все различия, контролю качества всех препаратов этой группы свойственны некоторые общие подходы, продиктованные, прежде всего, рисками, возникающими при их применении, и особенностями технологического процесса:

1. Риск передачи инфекций через донорский материал, который усугубляется при объединении (пулировании) клеток, полученных от разных доноров, делает обязательным проведение скрининга доноров и тестирования периферической крови донора на ряд инфекций до забора биопсийного материала с осуществлением повторного тестирования с целью исключения получения ложноотрицательного результата при первичном тестировании в инкубационный период.

2. Использование материалов и реактивов животного происхождения, компоненты которых могут вызывать иммуногенность и инфицировать пациента патогенами животных обуславливает необходимость их входного контроля с проверкой сертификатов анализа, использования облученных или термоинактивированных реактивов, полученных из стран с хорошей эпидемиологической обстановкой, в том числе по ТГЭ. Также необходимо максимально возможное удаление из ГП компонентов животного происхождения при невозможности их полного исключения из технологического процесса.

3. Необходимость культивирования МСК с возможной криозаморозкой промежуточных продуктов (клеток) и их банкирования требует осуществления характеристики культивируемых клеток по показателям качества «Подлинность», «Активность» и «Безопасность», а также составление отдельного паспорта на промежуточный продукт и спецификации на АС (если применимо), в которых содержится ряд показателей качества, отражающих морфо-функциональные характеристики МСК.

4. Вариабельность МСК в зависимости от источника получения, физического состояния донора и способа выделения клеток из биопсийного материала требует ортогонального подхода при оценке показателя качества «Подлинность» с применением

тестов, подтверждающих высокую пролиферативную активность клеток, мультипотентность, адгезивный характер роста на пластике и специфический профиль поверхностных маркеров.

5. Широкий спектр возможных механизмов действия МСК, требует чёткого обоснования способа достижения терапевтического эффекта и ортогонального подхода при оценке показателя качества «Активность», с применением тестов, отражающих механизм действия препарата, например, иммуномодулирующих свойств, регенеративной и репаративной активности, способности клеток к миграции и адгезии.

6. Вследствие невысокого риска туморогенности, характерного для мультипотентных МСК, тесты на их генетическую стабильность и возможность злокачественного перерождения могут быть проведены как в процессе производства при характеристике культивированных клеток, так и на стадии разработки и в ДКИ (при обосновании).

7. Несмотря на то, что МСК считаются слабо иммуногенными клетками, при аллогенном использовании клеток необходимо проведение анализа экспрессии молекул, участвующих в иммуногенности. Кроме того, могут вызвать иммунный ответ компоненты препарата, содержащие белки животного происхождения. Поэтому большое значение имеет подтверждение присутствия в ГП минимального количества реагентов животного происхождения, которое оценивается в показателе качества «Чистота».

8. Возможность образования в АС и/или ГП примесей, связанных с производственным процессом, и родственных примесей обуславливает необходимость выявления остаточного содержания реактивов, применяемых при производстве, «нецелевых» или нежизнеспособных клеток в рамках показателя качества «Чистота». Возможно отсутствие проведения исследований на остаточное содержание веществ, концентрация которых в продукте ниже уровня чувствительности аналитического метода, а также соединений, разрешён-

ных к медицинскому применению и обладающих доказанной в ДКИ и КИ безопасностью.

9. Показатели качества «Подлинность», «Активность», «Чистота», «Стерильность», «Микоплазма», «Бактериальные эндотоксины» и «Доза» являются обязательными при составлении спецификации на ГП на основе МСК.

10. Вследствие невозможности осуществления стерилизации, удаления или инактивации инфекционных агентов в АС или ГП, большое значение приобретают тестирование донорского материала, входной контроль реактивов, внутрипроизводственный контроль стерильности и тестирование ГП при выпуске партии продукта. В связи с небольшим сроком хранения/применения препаратов, содержащих МСК, возможно отсутствие результатов тестов на стерильность и микоплазму, проведённых при выпуске, на момент введения препарата пациенту, при наличии отрицательных результатов тестов, полученных с предыдущих стадий производства.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 05600026-24-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учёта НИР 124022200093-9).

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *О. А. Рачинская* — обработка и анализ данных литературы, написание текста рукописи; *Е. В. Мельникова* — критическое обсуждение и редактирование текста рукописи; *В. А. Меркулов* — критическое обсуждение и окончательное утверждение текста рукописи.

Литература/References

1. Kelly K., Rasko J. E. J. Mesenchymal stromal cells for the treatment of graft versus host disease. *Front Immunol.* 2021; 12: 761616. doi: 10.3389/fimmu.2021.761616.
2. Saeedi P, Halabian R., Imani Fooladi A. A revealing review of mesenchymal stem cells therapy, clinical perspectives and modification strategies. *Stem Cell Investig.* 2019; 6: 34. doi: 10.21037/sci.2019.08.11.
3. Markov A., Thangavelu L., Aravindhani S., Zekiy A. O., Jarahian M., Chartrand M. S. et al. Mesenchymal stem/stromal cells as a valuable source for the treatment of immune-mediated disorders. *Stem Cell Res Ther.* 2021; 12 (1): 192. doi: 10.1186/s13287-021-02265-1.
4. Gu J., Huang L., Zhang C., Wang Y., Zhang R., Tu Z. et al. Therapeutic evidence of umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation for cerebral palsy: a randomized, controlled trial. *Stem Cell Res Ther.* 2020; 11 (1): 43. doi: 10.1186/s13287-019-1545-x.
5. Köhnke R., Ahlers M. O., Birkelbach M. A., Ewald E, Krueger M., Fiedler I. et al. Temporomandibular joint osteoarthritis: regenerative treatment by a stem cell containing advanced therapy medicinal product (ATMP) — an *in vivo* animal trial. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (1): 443. doi: 10.3390/ijms22010443.
6. Najar M., Melki R., Khalife F, Lagneaux L., Bouhitt F, Agha D. M. et al. Therapeutic mesenchymal stem/stromal cells: value, challenges and optimization. *Front Cell Dev Biol.* 2022; 9: 716853. doi: 10.3389/fcell.2021.716853.
7. Domínic M., Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini Fc, Krause Ds, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006; 8 (4): 315–317. doi: 10.1080/14653240600855905.
8. Guadix J. A., López-Beas J., Clares B., Soriano-Ruiz J. L., Zugaza J. L., Gálvez-Martín P. Principal criteria for evaluating the quality, safety and efficacy of hmsc-based products in clinical practice: current approaches and challenges. *Pharmaceutics.* 2019; 11 (11): 552. doi: 10.3390/pharmaceutics11110552.
9. Malagutti-Ferreira M. J., Crispim B. A., Barufatti A., Cardoso S. S., Guarnier L. P., Rodriguez F F et al. Genomic instability in long-term culture of human adipose-derived mesenchymal stromal cells. *Braz J Med Biol Res.* 2023; 56: e12713. doi: 10.1590/1414-431X2023e12713.
10. Neri S. Genetic stability of mesenchymal stromal cells for regenerative medicine applications: a fundamental biosafety aspect. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (10): 2406. doi: 10.3390/ijms20102406.

11. Guidelines for Stem Cell Research and Clinical Translation. — International Society for Stem Cell Research, 2021 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.isscr.org/guidelines>.
12. *Mebarki M., Abadie C., Larghero J., Cras A.* Human umbilical cord-derived mesenchymal stem/stromal cells: a promising candidate for the development of advanced therapy medicinal products. *Stem Cell Res Ther.* 2021; 12 (1): 152. doi: 10.1186/s13287-021-02222-y.
13. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 78 (ред. от 20.10.2023) «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения». Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207379/7aff57bb273e91991b238c5aef207710342103f7/. Ссылка активна на 22.02.2024. [Eurasian Economic Commission Council Resolution No. 78 of November 03, 2016. On the Rules of Marketing Authorization and Assessment of Medicinal Products for Human Use. Dostupno po: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207379/7aff57bb273e91991b238c5aef207710342103f7/. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]
14. *Расторгуева А. А., Астрелина Т. А., Брунчук В. А., Сучкова Ю. Б., Кобзева И. В., Усупжанова Д. Ю. и др.* Эффективность применения МСК крыс и человека и их кондиционированных сред при местных лучевых поражениях на модели лабораторных животных. Гены и клетки. 2022; 17 (3): 194. [Rastorgueva A. A., Astrelina T. A., Brunchukov V. A., Suchkova Yu. B., Kobzeva I. V., Usupzhanova D. Yu. i dr. Effektivnost' primeneniya MSK krysi i cheloveka i ikh konditsionirovannykh sred pri mestnykh luchevykh porazheniyakh na modeli laboratornykh zhivotnykh. Geny i Kletki. 2022; 17 (3): 194. [in Russian]
15. *Рудаков В. С., Астрелина Т. А., Губарев К. К., Журбин А. С., Светлакова Д. С., Восканян С. Э.* Влияние трансплантации аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга на летальность и продолжительность жизни после обширных резекций печени: экспериментальное исследование. Клиническая и экспериментальная хирургия. 2019; 7 (2): 31–37. doi: <https://doi.org/10.24411/2308-1198-2019-12004>. [Rudakov V. S., Astrelina T. A., Gubarev K. K., Zhurbin A. S., Svetlakova D. S., Voskanyan S. E. The influence of allogenic multipotent mesenchymal stromal cells of bone marrow on mortality and lifespan after extended hepatectomy: experimental study. Clin Experiment Surg. Petrovsky J. 2019; 7 (2): 31–37. doi: <https://doi.org/10.24411/2308-1198-2019-12004>. (in Russian)]
16. *Рубникович С. П., Денисова Ю. Л., Андреева В. А., Панасенкова Г. Ю., Хомич И. С.* Применение мезенхимальных стволовых клеток в лечении рецессии десны в эксперименте. Кубанский научный медицинский вестник. 2018; 25 (5): 169–174. doi: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2018-25-5-83-92>. [Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Andreeva V. A., Panasenкова G. Yu., Khomich I. S. Cellular technology for treating gingival recession in the experiment. Kubanskiy Nauchnyi Meditsinskii Vestnik. 2018; 25 (5): 169–174. doi: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2018-25-5-83-92>. (in Russian)]
17. *Galstian G. M., Parovichnikova E. N., Makarova P. M., Kuzmina L. A., Troitskaya V. V., Gemdzhian E., Drize N. I., Savchenko V. G.* The results of the russian clinical trial of mesenchymal stromal cells (MSCs) in severe neutropenic patients (pts) with septic shock (SS) (RUMCESS trial). *Blood.* 2015; 126 (23): 2220. doi: 10.1182/blood.V126.23.2220.2220.
18. *Konoplyannikov M. A., Knyazev O. V., Baklaushev V. P.* MSC therapy for inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Practice.* 2021; 12 (1): 53–65. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract64530>.
19. *Воротеляк Е. А., Моргул Е. И., Чермных Э. С., Роговая О. С., Калабушева Е. П.* Регенерация кожи: очевидные модели и неочевидные результаты. Гены и клетки. 2022; 17 (3): 47. [Vorotelyak E. A., Morgun E. I., Chernnykh E. S., Rogovaya O. S., Kalabusheva E. P. Regeneratsiya kozhi: ochevidnye modeli i neochevidnye rezul'taty. Geny i Kletki. 2022; 17 (3): 47. [in Russian]
20. Alofisel Injection. Assessment Report (EMA/H/C/004258/0000). — European Medicines Agency (EMA), 2017 [cited 2024 Feb 22]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/alofisel-epar-public-assessment-report_en.pdf documents/a.
21. Alofisel Injection. Review Report. — Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), 2021 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.pmda.go.jp/files/000246420.pdf>.
22. Australian Public Assessment Report for Remestemcel-L, *ex vivo* adult human mesenchymal stem cells. Prochymal. — Therapeutic Goods Administration (TGA), 2015 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.tga.gov.au/sites/default/files/auspar-remestemcel-l-150315.pdf>.
23. *Temcell H. S. Inj.* Review Report. — Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), 2015 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.pmda.go.jp/files/000215658.pdf>.
24. Stemirac for Injection. Review Report. — Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), 2018 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.pmda.go.jp/files/000231946.pdf>.
25. *Gupta P. K., Chullikana A., Parakh R., Desai S., Das A., Gottipamula S. et al.* A double blind randomized placebo controlled phase I/II study assessing the safety and efficacy of allogeneic bone marrow derived mesenchymal stem cell in critical limb ischemia. *J Transl Med.* 2013; 10 (11): 143. doi: 10.1186/1479-5876-11-143.
26. Stempeutics [Internet]. Biotech Company, Bangalore [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.stempeutics.com/>.
27. Ministry of Food and Drug Safety, Republic of Korea [Internet]. Biological Products. CARTISTEM® [cited 2024 Feb 22]. Available from: https://www.mfds.go.kr/eng/brd/m_30/view.do?seq=69798&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1.
28. Ministry of Food and Drug Safety, Republic of Korea [Internet]. Biological Products. Cellgram® [cited 2024 Feb 22]. Available from: https://www.mfds.go.kr/eng/brd/m_30/view.do?seq=70957&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1.
29. Ministry of Food and Drug Safety, Republic of Korea [Internet]. Biological Products. Cupistem® [cited 2024 Feb 22]. Available from: https://www.mfds.go.kr/eng/brd/m_30/view.do?seq=71337.
30. Ministry of Food and Drug Safety, Republic of Korea [Internet]. Biological Products. Neuronata-R® [cited 2024 Feb 22]. Available from: https://www.mfds.go.kr/eng/brd/m_30/view.do?seq=70956.
31. *Han Y., Yang J., Fang J., Zhou Y., Candi E., Wang J. et al.* The secretion profile of mesenchymal stem cells and potential applications in treating human diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2022; 7 (1): 92. doi: 10.1038/s41392-022-00932-0.
32. *Ullah M., Liu D. D., Thakor A. S.* Mesenchymal Stromal Cell Homing: Mechanisms and Strategies for Improvement. *iScience.* 2019; 15: 421–438. doi: 10.1016/j.isci.2019.05.004.
33. *Kallmeyer K., Pepper M. S.* Homing properties of mesenchymal stromal cells. *Expert Opin Biol Ther.* 2015; 15 (4): 477–479. doi: 10.1517/14712598.2015.997204.
34. *Fu X., Liu G., Halim A., Ju Y., Luo Q., Song A. G.* Mesenchymal stem cell migration and tissue repair. *Cells.* 2019; 8 (8): 784. doi: 10.3390/cells8080784.
35. *Szydlak R.* Biological, chemical and mechanical factors regulating migration and homing of mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells.* 2021; 13 (6): 619–631. doi: 10.4252/wjsc.v13.i6.619.
36. *Dergilev K. V., Shevchenko E. K., Tsokolaeva Z. I., Beloglazova I. B., Zubkova E. S., Boldyreva M. A. et al.* Cell sheet comprised of mesenchymal stromal cells overexpressing stem cell factor promotes epicardium activation and heart function improvement in a rat model of myocardium infarction. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (24): 9603. doi: 10.3390/ijms21249603.
37. Reflection paper on stem cell-based medicinal products (EMA/CAT/571134/2009). — European Medicines Agency, 2011 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://pharmadviser.ru/documents/ss3575/ss3575.html>.
38. *Wang L. T., Liu K. J., Sytwu H. K., Yen M. L., Yen B. L.* Advances in mesenchymal stem cell therapy for immune and inflammatory diseases: Use of cell-free products and human pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl. Med.* 2021; 10: 1288–1303. doi: 10.1002/sctm.21-0021.
39. *Salem B. M. S., Hensel N. E., Battiwalla M., Keyvanfar K., Stroncek D. E., Gee A. P. et al.* Quantitative activation suppression assay to evaluate human bone marrow-derived mesenchymal stromal cell potency. *Cytotherapy.* 2015; 17: 1675–1686. doi: 10.1016/j.jcyt.2015.08.008.
40. *Yun C., Haixiang S., Hui Z., Xianghong Z., Xiaoqiu T., Guijun Y. et al.* Allogeneic cell therapy using umbilical cord MSCs on collagen scaffolds for patients with recurrent uterine adhesion: a phase I clinical trial. *Stem Cell Res Ther.* 2018; 9: 192. doi: 10.1186/s13287-018-0904-3.
41. *Najar M., Raicevic G., Fayyad-Kazan H., Bron D., Tounouz M., Lagneaux L.* Mesenchymal stromal cells and immunomodulation: a gathering of regulatory immune cells. *Cytotherapy.* 2016; 18: 160–171. doi: 10.1016/j.jcyt.2015.10.011
42. *Song Y., Lim J. Y., Lim T., Im K. I., Kim N., Nam Y. S. et al.* Human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow exert immunomodulatory effects in different mechanisms. *World J Stem Cells.* 2020; 12 (9): 1032–1049. doi: 10.4252/wjsc.v12.i9.1032.
43. *Rebelatto C. L. K., Boldrini-Leite L. M., Daga D. R., Marsaro D. B., Vaz I. M., Jamur V. R.* Quality control optimization for minimizing security risks associated with mesenchymal stromal cell-based product development. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (16): 12955. doi: 10.3390/ijms241612955.
44. *Fazzina R., Iudicone P., Fioravanti D., Bonanno G., Totta P., Zizzari I. G. et al.* Potency testing of mesenchymal stromal cell growth expanded in human platelet lysate from different human tissues. *Stem Cell Res Ther.* 2016; 7: 122. doi: 10.1186/s13287-016-0383-3.
45. *Xie Y., Liu W., Liu S., Wang L., Mu D., Cui Y., Cui Y., Wang B.* The quality evaluation system establishment of mesenchymal stromal cells for cell-

- based therapy products. *Stem Cell Res Ther.* 2020; 11 (1): 176. doi: 10.1186/s13287-020-01696-6.
46. Wang H., Zhao T., Xu F., Li Y., Wu M., Zhu D. et al. How important is differentiation in the therapeutic effect of mesenchymal stromal cells in liver disease. *Cytherapy.* 2014; 16: 309–318. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.07.011.
 47. Li D. R., Cai J. H. Methods of isolation, expansion, differentiating induction and preservation of human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Chin Med. J.* 2012; 125: 4504–4510.
 48. Santilli F., Fabrizi J., Pulcini F., Santacroce C., Sorice M., Delle-Monache S. et al. Gangliosides and their role in multilineage differentiation of mesenchymal stem cells. *Biomedicines.* 2022; 10: 3112. doi: 10.3390/biomedicines10123112.
 49. Costela-Ruiz V. J., Melguizo-Rodríguez L., Bellotti C., Illescas-Montes R., Stanco D., Arciola C. R. et al. Different sources of mesenchymal stem cells for tissue regeneration: a guide to identifying the most favorable one in orthopedics and dentistry applications. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (11): 6356. doi: 10.3390/ijms23116356.
 50. Mattar P., Bieback K. Comparing the immunomodulatory properties of bone marrow, adipose tissue, and birth-associated tissue mesenchymal stromal cells. *Front Immunol.* 2015; 6: 560. doi: 10.3389/fimmu.2015.00560.
 51. Voisin C., Cauchois G., Reppel L., Laroye C., Louarn L., Schenowitz C. et al. Are the immune properties of mesenchymal stem cells from wharton's jelly maintained during chondrogenic differentiation? *J. Clin Med.* 2020; 9: 423. doi: 10.3389/fimmu.2015.00560.
 52. Wang Y., Liu Y., Fan Z., Liu D., Wang F., Zhou Y. IGF1P2 enhances adipogenic differentiation potentials of mesenchymal stem cells from Wharton's jelly of the umbilical cord via JNK and Akt signaling pathways. *PLoS ONE.* 2017; 12: e0184182. doi: 10.1371/journal.pone.0184182.
 53. Mohamed-Ahmed S., Frisstad L., Lie S. A., Suliman S., Mustafa K., Vindenes H. et al. Adipose-derived and bone marrow mesenchymal stem cells: a donor-matched comparison. *Stem Cell Res. Ther.* 2018; 9: 168. doi: 10.1186/s13287-018-0914-1.
 54. Fitzgerald J. C., Shaw G., Murphy J. M., Barry F. Media matters: culture medium-dependent hypervariable phenotype of mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Res Ther.* 2023; 14: 363. doi: 10.1186/s13287-023-03589-w.
 55. Christy B. A., Herzig M. C., Montgomery R. K., Delavan C., Bynum J. A., Reddoch K. M. et al. Pro-coagulant activity of human mesenchymal stem cells. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2017; 83: S164–S169. doi: 10.1097/ta.0000000000001485.
 56. Mori Y., Ohshimo J., Shimazu T., He H., Takahashi A., Yamamoto Y. et al. Improved explant method to isolate umbilical cord-derived mesenchymal stem cells and their immunosuppressive properties. *Tissue Eng. Part C Methods* 2015; 21: 367–372. doi: 10.1089/ten.TEC.2014.0385.
 57. Hendijani F. Explant culture: An advantageous method for isolation of mesenchymal stem cells from human tissues. *Cell Prolif.* 2017; 50 (2): e12334. doi: 10.1111/cpr.12334.
 58. Pal R., Gupta P. K., Kemburu P. K., Prasanna J., Totey S., Seetharam R. N., et al. inventor; *Stempeutics Research Pvt Ltd, assignee.* Methods of preparing mesenchymal stem cells, compositions and kit thereof. United States patent US8956862B2. 2015 Feb 17.
 59. Böhrnsen F., Schliephake H. Supportive angiogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells and endothelial cells in monolayer and co-cultures. *Int J Oral Sci.* 2016; 8 (4): 223–230. doi: 10.1038/ijos.2016.39.
 60. Widholz B., Tsitlakidis S., Reible B., Moghaddam A., Westhauser F. Pooling of patient-derived mesenchymal stromal cells reduces inter-individual confounder-associated variation without negative impact on cell viability, proliferation and osteogenic differentiation. *Cells.* 2019; 8 (6): 633. doi: 10.3390/cells8060633.
 61. ClinicalTrials.gov [Internet]. National Library of Medicine [cited 2024 Feb 22]. Available from: www.clinicaltrials.gov.
 62. Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application/EDQM, 5th Edition. — European Committee (Partial Agreement) on Organ Transplantation (CD-P-TO), 2022 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://cnrha.sanidad.gob.es/documentacion/bioetica/pdf/guide-to-the-quality-and-safety-of-tissues-and-cells-for-human-application-5th-edition.pdf>
 63. Thompson M., Mei S. H. J., Wolfe D., Champagne J., Fergusson D., Stewart D. J. et al. Cell therapy with intravascular administration of mesenchymal stromal cells continues to appear safe: An updated systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine.* 2020; 19: 100249. doi: 10.1016/j.eclinm.2019.100249.
 64. Blázquez-Prunera A., Díez J. M., Gajardo R., Granchar S. Human mesenchymal stem cells maintain their phenotype, multipotentiality, and genetic stability when cultured using a defined xeno-free human plasma fraction. *Stem Cell Res. Ther.* 2017; 8: 103. doi: 10.1186/s13287-017-0552-z.
 65. Implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells. Commission Directive 2012/39/EU of 26 November 2012 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:02006L0017-20121217&rid=1>.
 66. Implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. Commission Directive (EU) 2015/565 of 8 April 2015 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:02006L0086-20150429&qid=1453620381230&from=EN>.
 67. Testing Donors of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/P): Specific Requirements. Specific Requirements. — U.S. Food and Drug Administration (FDA), 2019 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/safety-availability-biologics/testing-donors-human-cells-tissues-and-cellular-and-tissue-based-products-hctp-specific-requirements>.
 68. Liu W. X. Y., Gao T., Huang F., Wang L., Ding L., Wang W. et al. Reflection and observation: cell-based screening failing to detect HBV in HUMSCs derived from HBV-infected mothers underscores the importance of more stringent donor eligibility to reduce risk of transmission of infectious diseases for stem cell-based medical products. *Stem Cell Res Ther.* 2018; 9: 177. doi: 10.1186/s13287-018-0920-3.
 69. Recommendations to Reduce the Possible Risk of Transmission of Creutzfeldt-Jakob Disease and Variant Creutzfeldt-Jakob Disease by Blood and Blood Components. Guidance for Industry — U. S. Food and Drug Administration (FDA). 2022 [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.fda.gov/media/124156/download>.
 70. Torre M. L., Lucarelli E., Guidi S., Ferrari M., Alessandri G., De Girolamo L. et al. Ex vivo expanded mesenchymal stromal cell minimal quality requirements for clinical application. *Stem Cells Dev.* 2015; 24: 677–685. doi: 10.1089/scd.2014.0299.
 71. Cornelio D. A., Tavares J. C. M., Pimentel T. V. C. A., Cavalcanti-Jr G. B., Medeiros S. R. B. Cytokinesis-block micronucleus assay adapted for analyzing genomic instability of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2014; 23 (8): 823–838. doi: 10.1089/scd.2013.0383.
 72. Bonassi S., El-Zein R., Bolognesi C., Fenech M. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: Evidence from human studies. *Mutagenesis.* 2011; 26 (1): 93–100. doi: 10.1093/mutage/geq075.
 73. Sharma S., Bhonde R. Influence of nuclear blebs and micronuclei status on the growth kinetics of human mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol.* 2015; 230 (3): 657–666. doi: 10.1002/jcp.24789.
 74. Sharma S., Bhonde R. Genetic and epigenetic stability of stem cells: Epigenetic modifiers modulate the fate of mesenchymal stem cells. *Genomics.* 2020; 112 (5): 3615–3623. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.04.022.
 75. Guidelines on Good Manufacturing Practice for Advanced Therapy Medicinal Products. — European Medicines Agency (EMA), 2017 [cited 2024 Feb 22]. Available from: https://health.ec.europa.eu/system/files/2017-04/pharm731_2ib_atmps_guidelines_0.pdf.
 76. Новости фармацевтической отрасли [интернет]. Фармпром. Отраслевой информационный портал. Доступно по: <https://pharmprom.ru/ee-planiruet-obnovit-pravila-nadlezhashhej-proizvodstvennoj-praktiki-eaes>. Ссылка активна на 22.02.2024. [Novosti farmaceuticheskoy otrasli [internet]. Farmprom. Otrasl'evoy informacionnyj portal. Dostupno po: <https://pharmprom.ru/ee-planiruet-obnovit-pravila-nadlezhashhej-proizvodstvennoj-praktiki-eaes>. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]
 77. WHO good manufacturing practices for biological products. Annex 2 [cited 2024 Feb 22]. — World Health Organization (WHO) [cited 2024 Feb 22]. Available from: [annex-2-who-good-manufacturing-practices-for-biological-products.pdf](https://www.who.int/publications/m/item/good-manufacturing-practices-for-biological-products).
 78. Current Good Manufacturing Practice for Animal Cells, Tissues, and Celland Tissue-Based Products Guidance for Industry. — U.S. Food and Drug Administration (FDA) [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.fda.gov/media/147150/download>.
 79. ОФС.1.1.0024.18. Уменьшение риска передачи возбудителей губчатой энцефалопатии животных при применении лекарственных средств. Общая фармакопейная статья. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Доступно по: <https://e-ecolog.ru/docs/co-SuuoXoo0NpqhM6nIeie>. Ссылка активна на 22.02.2024. [OFS.1.1.0024.18. Umen'shenie riska peredachi vozбудitelej gubchatoi entsefalopatii zhivotnykh pri primenении lekarstvennykh sredstv. Obshchaya farmakopeynaya stat'ya. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV izdanie. Dostupno po: <https://e-ecolog.ru/docs/co-SuuoXoo0NpqhM6nIeie>. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]
 80. Heparin Sodium Solution for Dialysis. — Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA) [cited 2024 Feb 22]. Available from: <https://www.pmda.gov.jp/files/000231281.pdf>.

81. Гепарин натрия. Государственный реестр лекарственных средств (ГРЛС). Доступно по: <https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx?RegNumber=&MnnR=&lf=&TradeNmR=%d0%93%d0%b5%d0%bf%d0%b0%d1%80%d0%b8%d0%bd&OwnerName=&MnfOrg=&MnfOrgCountry=&isfs=0®type=1%2c6&pageSize=10&order=Registered&orderType=desc&pageNum=1>. Ссылка активна на 22.02.2024. [Geparin natriya. Gosudarstvennyi reestr lekarstvennykh sredstv (GRLS). Dostupno po: <https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx?RegNumber=&MnnR=&lf=&TradeNmR=%d0%93%d0%b5%d0%bf%d0%b0%d1%80%d0%b8%d0%bd&OwnerName=&MnfOrg=&MnfOrgCountry=&isfs=0®type=1%2c6&pageSize=10&order=Registered&orderType=desc&pageNum=1>. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]
82. Wilson A., Hodgson-Garms M., Frith J. E., Genever P. Multiplicity of mesenchymal stromal cells: finding the right route to therapy. *Front Immunol.* 2019; 10: 1112. doi: 10.3389/fimmu.2019.01112.
83. Banfi A., Muraglia A., Dozin B., Mastrogiacomo M., Canceda R., Quarto R. Proliferation kinetics and differentiation potential of *ex vivo* expanded human bone marrow stromal cells: implications for their use in cell therapy. *Exp Hematol.* 2000; 28: 707–715. doi: 10.1016/S0301-472X(00)00160-0.
84. Yang Y.-H.K., Ogando C. R., Wang See C., Chang T.-Y., Barabino G. A. Changes in phenotype and differentiation potential of human mesenchymal stem cells aging *in vitro*. *Stem Cell Res Ther.* 2018; 9: 131. doi: 10.1186/s13287-018-0876-3.
85. Russell A. L., Lefavor R., Durand N., Glover L., Zubair A. C. Modifiers of mesenchymal stem cell quantity and quality. *Transfusion.* 2018; 58: 1434–1440. doi: 10.1111/trf.14597.
86. Selich A., Daudert J., Hass R., Philipp E., von Kaisenberg C., Paul G. et al. Massive clonal selection and transiently contributing clones during expansion of mesenchymal stem cell cultures revealed by lentiviral RGB-barcode technology. *Stem Cells Transl Med.* 2016; 5: 591–601. doi: 10.5966/sctm.2015-0176.
87. Mizukami A., Swiech K. Mesenchymal stromal cells: from discovery to manufacturing and commercialization. *Stem Cells Int.* 2018; 2018: 4083921. doi: 10.1155/2018/4083921.
88. Chen X., Huang J., Wu J., Hao J., Fu B., Wang Y. et al. Human mesenchymal stem cells. *Cell Proliferation.* 2022; 55: e13141. doi: 10.1111/cpr.13141.
89. Hao J., Cao J., Wang L., Ma A., Chen Si., Ding J. et al. Requirements for human embryonic stem cells. *Cell Prolif.* 2020; 53 (12): e12925. doi: 10.1111/cpr.12925.
90. ОФС.2.6.1. Стерильность. Общая фармакопейная статья. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Доступно по: <https://rceth.by/Documents/3mz9dr20110602N2-6-1.pdf>. Ссылка активна на 22.02.2024. [ОФС.2.6.1. Obshchaya farmakopeinaya stat'ya. Steril'nost'. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV izdanie. Dostupno po: <https://rceth.by/Documents/3mz9dr20110602N2-6-1.pdf>. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]
91. ОФС.2.1.6.1. Стерильность (201060001-2019). Общая фармакопейная статья. Фармакопея Евразийского экономического союза. Доступно по: https://sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-11082020_5/farmakopeia/2/2.1/2.1.6/2.1.6.1/. Ссылка активна на 22.02.2024. [ОФС.2.1.6.1. Obshchaya farmakopeinaya stat'ya. Steril'nost' (201060001-2019). Farmakopeya Evraziiskogo ekonomicheskogo soyuza. Dostupno po: https://sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-11082020_5/farmakopeia/2/2.1/2.1.6/2.1.6.1/. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]
92. Jacobs M. R., Good C. E., Fox R. M., Roman K. P., Lazarus H. M. Microbial contamination of hematopoietic progenitor and other regenerative cells used in transplantation and regenerative medicine. *Transfusion.* 2013; 53: 2690–2696. doi: 10.3343/alm.2023.43.5.477.
93. Stormer M., Wood E. M., Schurig U., Karo O., Spreitzer I., McDonald C.P. et al. Bacterial safety of cell-based therapeutic preparations, focusing on hematopoietic progenitor cells. *Vox Sang.* 2014; 106: 285–296. doi: 10.1111/vox.12097.
94. Рощина М. В., Гунар О. В., Сахно Н. Г. Применимость альтернативного метода для анализа стерильности лекарственных препаратов. *Химико-фармацевтический журнал.* 2017; 51 (11): 61–64. doi: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2017-51-11-61-64>. [Roshchina M. V., Gunar O. V., and Sakhno N. G. Applicability of an alternative method for analysis of the sterility of medicinal preparations. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2017; 51 (11): 61–64. doi: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2017-51-11-61-64>. (in Russian)]
95. Водякова М. А., Сайфутдинова А. Р., Мельникова Е. В., Олещук Ю. В. Сравнение требований фармакопей мира к качеству клеточных линий. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2020; 20 (3): 159–173. doi: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-3-159-173>. [Vodyakova M. A., Sayfudinova A. R., Melnikova E. V., Olefir Yu. V. Comparison of the world pharmacopoeias' requirements for the quality of cell lines. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2020; 20 (3): 159–173. doi: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-3-159-173>. (in Russian)]
96. ОФС.1.7.2.0031.15 Испытание на присутствие микоплазм. Общая фармакопейная статья. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-2-0031-15-ispytanie-na-prisutstvie-mikoplazm/>. Ссылка активна на 22.02.2024. [ОФС.1.7.2.0031.15 Ispytanie na prisutstvie mikoplazm. Obshchaya farmakopeinaya stat'ya. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV izdanie. Dostupno po: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-2-0031-15-ispytanie-na-prisutstvie-mikoplazm/>. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]
97. Zhi Y., Mayhew A., Seng N., Takle G. B. Validation of a PCR method for the detection of mycoplasmas according to European Pharmacopoeia section 2.6.7. *Biologicals.* 2010; 38 (2): 232–237. doi: 10.1016/j.biologicals.2009.11.003.
98. ОФС.1.2.4.0006.15 Бактериальные эндотоксины. Общая фармакопейная статья. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Доступно по: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0006-15-bakterialnye-endotoksiny/>. Ссылка активна на 22.02.2024. [ОФС.1.2.4.0006.15 Bakterial'nye endotoksiny. Obshchaya farmakopeinaya stat'ya. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV izdanie] Dostupno po: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0006-15-bakterialnye-endotoksiny/>. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]
99. ОФС.2.1.6.8. Бактериальные эндотоксины (201060008-2019). Общая фармакопейная статья. Фармакопея Евразийского экономического союза. Доступно по: https://sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-11082020_5/farmakopeia/2/2.1/2.1.6/2.1.6.8/. Ссылка активна на 22.02.2024. [ОФС.2.1.6.8. Bakterial'nye endotoksiny (201060008-2019). Obshchaya farmakopeinaya stat'ya. Farmakopeya Evraziiskogo ekonomicheskogo soyuza. Dostupno po: https://sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-11082020_5/farmakopeia/2/2.1/2.1.6/2.1.6.8/. Ssylka aktivna na 22.02.2024. (in Russian)]

Поступила/Received 13.03.2024

Принята в печать/Accepted 20.04.2024

Информация об авторах

Рачинская Ольга Анатольевна — к. б. н., ведущий эксперт лаборатории биомедицинских клеточных продуктов ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8377-9205

Мельникова Екатерина Валерьевна — к. б. н., начальник лаборатории биомедицинских клеточных продуктов ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9585-3545

Меркулов Вадим Анатольевич — д. м. н., заместитель генерального директора ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-4891-973X

About the authors

Olga A. Rachinskaya — Ph. D. in Biology, Leading expert of the laboratory of biomedical cell products, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-8377-9205

Ekaterina V. Melnikova — Ph. D. in Biology, Head of laboratory of biomedical cell products, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9585-3545

Vadim A. Merkulov — D. Sc. in Medicine, Professor, the Deputy General Director, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation; I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4891-973X