



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.10.3.018>
УДК [618.36+616.419]:616.155.011]:612.115.3-053.2



Дмитриев В.В.✉, Лях Е.Г., Исайкина Я.И., Минаковская Н.В., Прудников Д.В.,
Кирсанова Н.П., Марейко Ю.Е., Наумович М.Г., Янушкевич П.Г., Жерко Л.В.,
Борисенок М.Б., Мычкова Г.Н.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии
и иммунологии, Минск, Беларусь

Влияние биомедицинского клеточного продукта мезенхимальных стволовых клеток плаценты и костного мозга человека на свертываемость крови у детей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн – Дмитриев В.В.; исследование свертывания крови – Борисенок М.Б.; исследование антикоагулянтной активности – Мычкова Г.Н.; выполнение процедуры введения мезенхимальных стволовых клеток, лечение пациентов, забор анализов – Минаковская Н.В., Прудников Д.В., Кирсанова Н.П., Марейко Ю.Е., Наумович М.Г., Янушкевич П.Г., Жерко Л.В.; клиническая характеристика пациентов – Кирсанова Н.П., Марейко Ю.Е.; анализ и интерпретация осложнений – Исайкина Я.И.; анализ и интерпретация результатов – Лях Е.Г., Дмитриев В.В.; подготовка клеточного продукта – Лях Е.Г.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Подана: 20.07.2024

Принята: 10.09.2024

Контакты: dmitrievhaematol@mail.ru

Резюме

Цель. Изучить влияние мезенхимальных стволовых клеток на свертывание крови у детей с онкогематологическими заболеваниями.

Материалы и методы. В исследование включены 11 пациентов в возрасте от 1 года до 17 лет, медиана возраста 5 лет, мальчиков 8, девочек – 3. Всего 11 пациентам с января по декабрь 2023 года выполнено 21 введение биомедицинского клеточного продукта мезенхимальных стволовых клеток (БМКП МСК). В зависимости от типа БМКП МСК выделено 2 группы. Первая группа – в 9 наблюдениях выполнено введение МСК костного мозга (МСК КМ). Вторая группа – в 12 наблюдениях введены МСК плаценты человека (МСК П).

Результаты. Перед введением БМКП у пациентов обеих групп зарегистрирована нормокоагуляция. Обращали внимание на повышенное по сравнению с нормой содержание и активность фактора Виллебранда и фактора свертывания крови VIII. Через 15 минут и через сутки после введения МСК КМ и МСК П хронометрические показатели свертывания крови не отличались ($p < 0,1$; парный Т-тест) от исходного значения соответствующих показателей. Через 15 минут после завершения трансфузии МСК П зарегистрировано повышение в 12,1 раза содержания D-димеров, в 23,6 раза содержания ПДФ и в 10,5 раза содержания РКМФ по сравнению с исходными значениями ($p = 0,001$; Т-тест) и соответствующими показателями ($p = 0,001$; U-тест), зарегистрированными после введения МСК КМ. Через 24 часа содержание D-димеров 5, 4, 0 (1,1–12,9) мкг/мл ($p = 0,02$), содержание ПДФ 19,2 (3,2–101,0) мкг/мл ($p = 0,001$) и РКМФ 130,0 (13,3–185,0) мкг/мл ($p = 0,0001$) превышали исходные значения.

Заключение. Введение БМКП МСК плаценты, по сравнению с МСК КМ, сопровождается повышением содержания РФМК, ПДФ и D-димеров, что косвенно указывает на ускоренную генерацию тромбина. Для предотвращения тромботических осложнений клеточной терапии БМКП МСК плаценты необходимо антикоагулянтное сопровождение.

Ключевые слова: гемобластозы, дети, мезенхимальные стволовые клетки, свертывание крови

Dmitriev V., Liakh E., Isaikina Y., Minakovskaya N., Prudnikau D., Kirsanova N., Mareika Y., Naumovich M., Yanushkevich P., Zherko L., Borisenok M., Michkova G.
Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Influence of Biomedical Cell Product Mesenchymal Stem Cells of the Human Placenta and Bone Marrow on Blood Clotting in Children

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design – Dmitriev V.; blood coagulation study – Borisenok M.; anticoagulant activity study – Michkova G.; mesenchymal stem cell injection procedure, patient treatment, sampling – Minakovskaya N., Prudnikau D., Kirsanova N., Mareika Y., Naumovich M., Yanushkevich P., Zherko L.; clinical characteristics of patients – Kirsanova N., Mareika Y.; analysis and interpretation of complications – Isaikina Y.; analysis and interpretation of results – Liakh E., Dmitriev V.; preparation of the cell product – Liakh E.

Funding: the study had no sponsorship.

Submitted: 20.07.2024

Accepted: 10.09.2024

Contacts: dmitrievhaematol@mail.ru

Abstract

Purpose. To study the effect of transfusion of mesenchymal stem cells on blood coagulation in children with oncological and hematological diseases.

Materials and methods. The study included 11 patients aged from 1 to 17 years, median age 5 years, boys 8, girls 3. A total of 11 patients from January to December 2023 received 21 injections of a biomedical cell product based on mesenchymal stem cells. Depending on the type of BMCP MSC, 2 groups were distinguished. The first group – in 9 cases, transfusion of bone marrow MSCs (BM MSCs) was performed. The second group – in 12 cases, transfusion of human placenta MSCs (MSCs P) was performed.

Results. Before the introduction of BMCP, normocoagulation was recorded in patients of both groups. The increased content and activity of von Willebrand factor and blood coagulation factor VIII compared to the norm were noted. 15 minutes and one day after transfusion of BM MSCs and P MSCs, the chronometric indicators of blood coagulation did not differ ($p < 0.1$; paired T-test) from the initial value of the corresponding indicators. 15 minutes after the completion of the transfusion of MSCs P, an increase of 12.1 times in the content of D-dimers, 23.6 times in the content of PDF and 10.5 times in the content of RKMP was recorded compared to the initial values ($p = 0.001$; T-test) and corresponding indicators ($p = 0.001$; U-test) recorded after the introduction of BM MSCs. After 24 hours,



the content of D-dimers was 5.4.0 (1.1–12.9) $\mu\text{g/ml}$ ($p=0.02$), the content of PDF was 19.2 (3.2–101.0) $\mu\text{g/ml}$ ($p=0.001$) and RKMf 130.0 (13.3–185.0) $\mu\text{g/ml}$ ($p=0.0001$) exceeded the initial values.

Conclusion. Transfusion of placental MSCs, compared to BM MSCs, is accompanied by an increase in the content of RFMC, PDP and D-dimers, which indirectly indicates the accelerated generation of thrombin. To prevent thrombotic complications of placental MSC transfusion, anticoagulant support is necessary.

Keywords: hemoblastoses, children, mesenchymal stem cells, blood clotting

■ ВВЕДЕНИЕ

Биомедицинский клеточный продукт мезенхимальных стволовых/стромальных клеток (БМКП МСК) обладает комплексным противовоспалительным, регенеративным, антиапоптотическим и иммуносупрессивным эффектом, благодаря чему находит все более широкое применение в терапии как различных соматических, так и онкогематологических заболеваний [1]. Основным материалом для получения МСК является костный мозг. С развитием клеточных технологий фокус интереса сместился на более доступные и не требующие сложных манипуляций источники, такие как жировая и перинатальные ткани (плодные оболочки плаценты, пупочный канатик). МСК из экстраэмбриональных гестационных тканей обладают высокой пролиферативной активностью, позволяя получить высокодозные клеточные продукты, после непродолжительного культивирования *in vitro*, поэтому популярность применения этого типа БМКП МСК увеличивается с каждым годом [2].

Исследователи выявили распространение микротромбов в сердце, почках, селезенке и легких экспериментальных животных [3–5] после инфузии МСК, полученных из тканей пупочного канатика или жировой ткани. Прокоагулянтные свойства МСК исследователи связывали с несколькими факторами. Sanada Ch. et al., 2013 [6], показали, что в перинуклеарной области МСК, выделенных из различных тканей организма, локализуется фактор VIII (FVIII), который обеспечивает включение IX и X факторов по внутреннему и общему пути коагуляционного каскада, в результате чего протромбин превращается в тромбин [6]. Другие исследователи продемонстрировали, что на клеточной поверхности МСК экспрессирован тканевой фактор (ТФ), инициирующий активацию свертывания крови по внешнему пути [7]. Степень экспрессии ТФ зависит от источника получения БМКП: МСК жировой ткани и пупочного канатика экспрессируют наибольшее количество ТФ, затем идут МСК плаценты и на последнем месте МСК костного мозга. Решающую роль в индукции экспрессии ТФ играет процесс культивирования МСК *in vitro*, причем присутствие ТФ на клеточных мембранах может сильно варьировать от донора к донору [8]. Поэтому в зависимости от источника получения следует ожидать различное влияние МСК на свертывание крови, особенно у детей с осложнениями, возникшими после аллогенных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние биомедицинского клеточного продукта мезенхимальных стволовых клеток плаценты и костного мозга человека на свертываемость крови у детей с онкогематологическими заболеваниями.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 11 пациентов в возрасте от 1 года до 17 лет, медиана возраста 5 лет, мальчиков 8, девочек – 3. Трансфузии мезенхимальных стволовых клеток (МСК) 8 пациентов получили в связи с осложнениями после аллогенных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) по поводу гемобластозов: ОЛЛ – 1 пациент (число введений МСК $n=1$), ОМЛ – 3 пациента (число введений МСК $n=5$), ПАА – 2 пациента (число введений МСК $n=2$), МДС – 1 пациент (число введений МСК $n=1$), ПИД – 1 пациент (число введений МСК $n=5$). Миелоаблятивный режим кондиционирования получили 5 пациентов, режим со сниженной интенсивностью – 3 пациента. В зависимости от типа донора ТГСК 2 пациентам выполнена родственная совместимая ТГСК, 3 пациентам – неродственная совместимая ТГСК, 3 – родственная гаплоидентичная ТГСК. В посттрансплантационном периоде все пациенты получали иммуносупрессивную терапию для профилактики осложнений в виде реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Трансфузии МСК на фоне проведения курса иммуносупрессивной терапии (2 пациента с приобретенной апластической анемией, число введений МСК $n=4$; 1 пациент с иммунной тромбоцитопенией после спленэктомии, число введений МСК $n=3$) получили 3 пациента. Всего 11 пациентам с января по декабрь 2023 года проведено 21 введение биомедицинского клеточного продукта: на основе мезенхимальных стволовых клеток плаценты – 6 пациентам (55%), костного мозга – 5 пациентам (45%).

В зависимости от типа БМКП МСК, использованного для клеточной терапии, выделено 2 группы. Первую группу составили 9 наблюдений за пациентами, которым было выполнено введение БМКП МСК костного мозга (МСК КМ). Вторую группу составили 12 наблюдений за пациентами, получившими БМКП МСК плаценты человека (МСК П).

Для наработки БМКП МСК плаценты были использованы фрагменты послеродовой плаценты, полученные от рожениц-доноров, после получения информированного согласия на использование их биоматериала ($n=12$). МСК выделяли ферментативным методом с применением коллагеназы I или методом эксплантации. БМКП МСК КМ получали из проб костного мозга здоровых доноров, являвшихся донорами гемопоэтических стволовых клеток для аллогенной трансплантации ($n=9$). Мононуклеарные клетки выделяли на Гистопаке плотностью $1,077$ (Sigma, США), дважды отмывали в растворе Хенкса. Культивирование МСК выполняли по стандартной методике при 37°C в CO_2 инкубаторе в среде IMDM (Life Technologies, США) с 10% АВ-сывороткой (ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий», Беларусь). При достижении 70–90% конфлюэнтного слоя клетки снимали с поверхности флакона 0,25% раствором трипсин-ЭДТА и рассаживали в новые флаконы по 1×10^6 . Экспансию выполняли до достижения дозы клеток, необходимой для проведения клеточной терапии. Все изготовленные БМКП МСК соответствовали критериям принадлежности к популяции МСК по иммунофенотипу, а также подтверждена их стерильность методами микробиологического исследования.

Пациенты получили инфузию БМКП МСК в объеме не менее 15–20 мл натрия хлорида изотонического 0,9% либо 30–40 мл 5% альбумина человеческого и 10% диметилсульфоксида в случае применения БМКП после криохранения. Клеточную суспензию вводили пациенту внутривенно медленно (в течение 10–15 минут) не позднее 30 минут после получения или размораживания продукта.



Взятие крови пациентов проводили перед трансфузией МСК, через 15 минут после завершения введения БМКП и через сутки. Для нивелирования влияния процедуры пункции периферической вены кровь для исследования в объеме 5 мл набирали из венозного катетера центральной вены (ЦВК) после подтверждения проходимости и двукратного промывания ЦВК физраствором в объеме заполнения системы. В процессе выполнения процедуры по введению БМКП другие инфузионные среды и лекарственные препараты не вводили.

Кровь стабилизировали 3,8%-ным раствором натрия цитрата в соотношении 9:1 соответственно. Стабилизированную кровь центрифугировали при ускорении 200 g в течение 10 минут для получения богатой тромбоцитами плазмы, после чего тромбоцитарную плазму в отдельной пробирке дополнительно центрифугировали при 2000 g в течение 10 минут для приготовления бедной (бестромбоцитарной) плазмы, использовавшейся для исследования. Исследование свертывания включало: регистрацию турбидиметрическим методом хронометрических показателей (активированного парциального тромбопластинового времени – АПТВ, протромбинового времени – ПВ, тромбинового времени – ТВ), содержания плазменного фибриногена методом Claus автоматическими коагулометрами ACL-7000 и ACL-9000 фирмы Instrumentation Laboratory (IL) с использованием диагностических наборов фирмы IL. Количественным методом по тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными на них моноклональными антителами определяли содержание vWF:Ag и активность фактора Виллебранда vWF:RCo набором фирмы IL. Количественным методом по тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными на них моноклональными антителами определяли содержание D-димеров набором D-Dimer kit фирмы Instrumentation Laboratory (IL). По тесту агглютинации частиц латекса с адсорбированными моноклональными антителами проводили количественное определение в плазме крови ранних продуктов деградации фибриногена и фибрина (ПДФ) набором PDF PLASMA фирмы Stago и растворимых комплексов мономеров фибрина (РКМФ) с использованием стандартного набора F.S. TEST фирмы Stago. С использованием хромогенных субстратов, входящих в диагностические наборы IL, регистрировали активность антитромбина III, протеина С и протеина S. Для коагуляционных показателей в качестве контроля использовали нормальную контрольную плазму, входящую в состав диагностических наборов фирмы Instrumentation Laboratory. Представление результатов хронометрических тестов в виде относительной величины (R), равной отношению исследуемого хронометрического показателя к величине соответствующего показателя контрольной плазмы, позволило сравнивать результаты, независимо от времени проведения исследования, активности используемых реагентов. По результату определения протромбинового времени с учетом чувствительности реагента анализатор автоматически рассчитывал активность факторов протромбинового комплекса и международное нормализованное отношение (МНО). За величину показателей гемостаза, отражающих возрастную норму, использовали результаты наблюдений, представленные в публикациях Andrev M. et al., 1992 [9], и Toulon P. et al., 2016 [10].

Подсчет показателей общего анализа крови, включая содержание тромбоцитов периферической крови, осуществляли автоматическим анализатором MICROS-60. Дополнительно регистрировали активность лактатдегидрогеназы (МЕ/л), содержание креатинина крови (мкМоль/л) и С-реактивного белка (мг/100 мл), количественное

содержание комплемента С3а (г/л) и С4 (г/л). Для прогнозирования осложнений использовали расчетный показатель EASEX (Endothelial Activation and Stress Index): ЛДГ (МЕ) × креатинин (мг/100 мл) × тромбоциты крови⁻¹ (индекс эндотелиальной активации – ИЭА).

Статистический анализ данных выполнен при помощи компьютерного пакета программ STATISTICA (версия 6.0). Количественные показатели описательной статистики представлены как медиана (10-й – 90-й процентиля). Достоверность различия показателей в сравниваемых группах оценивали по критерию Mann-Whitney Test (U), а для попарно связанных вариантов – по парному критерию Вилкоксона (T). Значимыми признаны различия для P<0,05.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Перед введением БМКП МСК КМ у всех 9 пациентов первой группы зарегистрировано состояние нормокоагуляции, на что указывала величина R (АПТВ) 0,94 (0,84–1,09) отношения АПТВ пациента / АПТВ в контроле, активность факторов протромбинового комплекса 87,5 (69,0–114,0)% и содержания фибриногена 2,7 (2,1–3,8) г/л, соответствующие возрастной норме [9, 10]. Обращали внимание на повышенное содержание 166,6 (160,0–178,0)% и активность 200,0 (171,0–267,0) фактора Виллебранда и фактора свертывания крови VIII 164,0 (98,0–292,0)%, что отражало степень эндотелиальной дисфункции. После введения БМКП МСК КМ через 15 минут и через сутки показатели свертывания крови не отличались (p<0,1; парный T-тест) от исходного значения соответствующих показателей (см. таблицу).

Влияние трансфузии МСК на свертывание крови у детей с гемобластозами
Effect of MSC transfusion on blood coagulation in children with hematologic malignancies

Анализируемый признак	Тип МСК и этапы исследования					
	Введение БМКП МСК костного мозга			Введение БМКП МСК плаценты		
	До n=9	После n=9	Через сутки n=9	До n=12	После n=12	Через сутки n=12
Серия стендового опыта	Серия 1	Серия 2	Серия 3	Серия 4	Серия 5	Серия 6
Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), с	33,0 25,0–39,0 P(1–4)=0,207	33,2 30,2–38,0	36,2 29,0–39,0	37,0 28,3–43,0	37,9 26,0–42,0	34,4 24,0–39,0
Отношение АПТВ пациента / АПТВ в контроле, ед.	0,94 0,84–1,09	0,92 0,85–1,24	1,01 0,86–1,08	1,01 0,8–1,22	1,06 0,8–1,21	0,95 0,7–1,01
Активность факторов протромбинового комплекса, %	87,5 69,0–114,0	82,5 61,0–114,0	75,5 55,0–105,0	83,0 67,0–140,0	68,0 60,0–127,0	84,0 61,0–130,0
Фибриноген, г/л	2,7 2,1–3,8	2,7 1,6–4,2	2,5 1,6–3,6	3,0 1,1–4,1	2,2 1,2–3,5	2,1 1,5–3,8
Фактор Виллебранда, %	166,0 160,0–178,00	170,0 159,0–173,0	162,5 154,0–177,0	176,0 126,0–188,0	180,0 132,0–187,0	179,0 165,0–187,0 P(6–3)=0,01
Активность фактора Виллебранда, %	200,0 171,0–267,0	189,0 162,0–256,0	202,0 151,0–261,0	153,0 100,0–261,0	199,0 102,0–269,0	236,0 158,0–267,0



Окончание таблицы

Анализируемый признак	Тип МСК и этапы исследования					
	Введение БМКП МСК костного мозга			Введение БМКП МСК плаценты		
	До n=9	После n=9	Через сутки n=9	До n=12	После n=12	Через сутки n=12
Активность фактора VIII, %	164,0 98,0–292,0	174,0 97,0–245,0	143,0 96,0–247,0	146,0 71,0–416,0	137,0 54,0–446,0	240,0 88,0–404,0
Активность антитромбина III, %	109,0 76,0–127,0	109,0 75,0–127,0	101,5 80,0–113,0	110,0 65,0–134,0	102,0 77,0–129,0	113,0 72,0–133,0
Активность протеина С, %	96,0 57,0–129,0	91,5 47,0–125,0	102,0 57,0–123,0	76,0 56,0–220,0	117,0 32,0–202,0	117,0 42,0–229,0
Активность протеина S, %	81,0 61,0–144,0	68,0 57,0–127,0	71,0 55,0–106,0	109,0 45,0–148,0	97,5 56,0–121,0	103,0 54,0–145,0
D-димер, мкг/мл	1,4 0,6–4,6	1,8 0,7–20,0	1,5 1,0–10,5	1,4 0,2–4,0	17,0* 1,3–22,0 P(5–2)=0,008	5,4* 1,1–12,9 P(6–3)=0,08
Продукты деградации фибриногена и фибрина, мкг/мл	2,9 1,6–10,1	14,2 1,7–17,0	13,1 2,3–18,0	2,5 1,4–14,0	59,0* 2,4–98,0	19,2* 3,2–101,0
Растворимые комплексы мономеров фибрина, мкг/мл	6,6 4,0–31,0	16,0 6,3–37,0	10,2 4,5–13,3	3,8 2,8–20,0	40,0* 13,3–150,0 P(5–2)=0,001	130,0* 13,3–185,0 P(6–3)=0,01
Тромбоциты венозной крови, 10 ⁹ /л	77,0 46,0–192,0	–	76,0 31,0–192,0	21,0 17,0–140,0	–	33,0 22,0–43,0
Индекс эндотелиальной активации, ед.	1,3 (0,3–12,4)	–	1,3 (0,4–10,0)	1,51 (0,47–1,5)	–	2,52 (1,21–3,8)
Объем БМКП МСК, мл	20,0 (15,0–35,0)	–	–	30,0 (20,0–40,0)	–	–
Количество ядродержащих клеток, ×10 ⁶ /кг	2,9 (2,2–3,8)	–	–	3,1 (2,0–6,1)	–	–

Примечания: P – достоверность различия с соответствующим показателем после трансфузии МСК костного мозга (U-тест);
* P<0,02 – достоверность различия с исходным значением соответствующего показателя (парный T-тест).

Перед введением БМКП МСК П у 12 пациентов второй группы, так же как и в первой группе, зарегистрирована нормокоагуляция. Состояние нормокоагуляции подтверждали величина R (АПТВ) 1,01 (0,8–1,22), активность факторов протромбинового комплекса 83,0 (67,0140,0)% и содержание фибриногена 3,0 (1,1–4,1) г/л. Так же как и у детей первой группы, выявлены повышенное содержание 176,0 (126,0–188,0)% и активность 153,0 (100,0–261,0)% фактора Виллебранда, фактора VIII 146,0 (71,0–416,0)%.

Через 15 минут после завершения введения БМКП МСК П зарегистрировано повышение в 12,1 раза содержания D-димеров 17,0 (1,3–22,0) мкг/мл, в 23,6 раза – содержания ПДФ 59,0 (2,4–98,0) мкг/мл и в 10,5 раза – содержания РКМФ 40,0 (13,3–150,0) мкг/мл по сравнению с исходными значениями (p=0,001; T-test) и соответствующими показателями (p=0,001; U-test), зарегистрированными после введения МСК КМ. Через 24 часа содержание D-димеров 5,4 (1,1–12,9) мкг/мл (p=0,02; T-test), содержание ПДФ 19,2 (3,2–101,0) мкг/мл (p=0,001; T-test) и РКМФ 130,0 (13,3–185,0) мкг/мл (p=0,0001, T-test) превышали исходное значение. Обращало на себя внимание повышенное содержание фактора Виллебранда 179,0 (165,0–187,0)%

по сравнению ($p=0,01$) с аналогичным показателем 162,5 (154,0–177,0)%, зарегистрированным через сутки после трансфузии БМКП МСК КМ.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Мультипотентные мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК) способны дифференцироваться на несколько линий мезенхимальной ткани, таких как остеобласты, хондроциты и адипоциты [11]. Кроме того, МСК используют для лечения сердечных и легочных заболеваний, сосудистых и метаболических нарушений, ряда неврологических расстройств [12]. МСК обеспечивают физическую поддержку и секретируют растворимые факторы для контроля функции и поддержания регенерации клеток паренхиматозных органов, а также гемопоэтических стволовых клеток-предшественников (ГСКП). МСК контролируют активацию Т-клеток, ингибируя продукцию и секрецию воспалительных цитокинов, и предотвращают активацию и созревание дендритных клеток [13]. На основании этих свойств МСК считаются привлекательным «инструментом» для лечения иммуноопосредованных заболеваний, таких как реакция «трансплантат против хозяина» – осложнение, ассоциированное с высокой смертностью и возникающее чаще у пациентов, перенесших аллогенную ТГСК [13]. МСК КМ в настоящее время зарегистрированы для лечения детей с острой РТПХ в Японии, Канаде и Новой Зеландии [14, 15], в том числе и в Беларуси.

Исследователи уделяют особое внимание безопасности трансфузии МСК. Три крупных метаанализа, включавших тысячи пациентов, получавших МСК КМ, обнаружили лишь небольшое повышение температуры тела при инфузии МСК у нескольких пациентов [16]. Отсутствие осложнений исследователи связывали с соблюдением мер безопасности, таких как удаление более крупных клеточных агрегатов путем фильтрации через синтетическую микросетку (70 мкм) перед инъекцией клеток, гепаринизированные шприцы, профилактическая антикоагулянтная терапия. Тем не менее, в прошлом сообщалось о случаях тромбоземболии (например, микро- и макротромбоз) в ответ на высокопрокоагулянтные продукты МСК, экспрессирующие TF/CD142, [17, 18]. Этот негативный эффект клеточной терапии, по мнению исследователей, можно предотвратить введением гепарина в дозе 400 ЕД/кг либо рекомбинантным тромбомодулином человека [3, 4]. Остается неясным, связывается ли гепарин с поверхностью МСК и какая доза гепарина будет эффективной для ослабления прокоагулянтной активности МСК без неблагоприятного системного влияния на свертывание крови. В то же время стромальные клетки могут быть привлекательной альтернативой для лечения детей и взрослых с клиникой массивного кровотечения или геморрагического цистита после ТГСК [19]. По мнению исследователей, МСК, полученные из плаценты, оказывают более сильное влияние на коагуляцию, чем МСК КМ, из-за более высокой экспрессии прокоагулянтного TF/CD142 и, следовательно, более сильного сокращения времени свертывания крови [20].

Выявленные нами изменения указывают на ускоренную генерацию тромбина, ассоциированную с внутривенным введением БМКП МСК плацентарного происхождения, по сравнению с эффектом БМКП костного мозга. Выявленное обстоятельство указывает на необходимость антикоагулянтного сопровождения процедуры трансфузии БМКП МСК плаценты.

Перед трансфузией МСК у всех пациентов были выявлены повышение активности фактора свертывания крови VIII, повышенное содержание и активность фактора



Виллебранда, что отражало степень эндотелиальной дисфункции. Через сутки после введения МСК П содержание фактора Виллебранда 179,0 (165,0–187,0)% превышало ($p=0,01$; U-test) величину аналогичного показателя 162,5 (154,0–177,0)%, зарегистрированного после введения МСК КМ. Это косвенно указывает на способность МСК П в большей мере, чем МСК КМ, усугублять эндотелиальное повреждение.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение БМКП МСК плаценты, по сравнению с МСК КМ, сопровождается повышением содержания РФМК, ПДФ и D-димеров, что косвенно указывает на ускоренную генерацию тромбина. Выявленные различия влияния МСК на показатели свертывания крови определяют потенциальную возможность использования МСК плаценты для остановки кровотечений, осложнивших ТГСК. Для предотвращения тромботических осложнений введения МСК плаценты необходимо антикоагулянтное сопровождение.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Guillamat-Prats R. (2022) Role of Mesenchymal Stem/Stromal Cells in Coagulation. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, pp. 10393. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms231810393>
- Mendicino M., Bailey A.M., Wonnacott K., et al. (2014) MSC-based product characterization for clinical trials: an FDA perspective. *Cell Stem Cell*, vol. 14, no 2, pp. 141–145. doi: 10.1016/j.stem.2014.01.013
- Tatsumi K., Ohashi K., Matsubara Y. et al. (2013) Tissue Factor Triggers Pro-coagulation in Transplanted Mesenchymal Stem Cells Leading to Thrombo-embolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 431, pp. 203–209. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.12.134
- Liao L., Shi B., Chang H. et al. (2017) Heparin Improves BMSC Cell Therapy: Anticoagulant Treatment by Heparin Improves the Safety and Therapeutic Effect of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell Cytotherapy. *Theranostics*, vol. 7, pp. 106–116. doi: 10.7150/thno.16911
- Moll G., Ignatowicz L., Catar R. et al. (2015) Different Procoagulant Activity of Therapeutic Mesenchymal Stromal Cells Derived from Bone Marrow and Placental Decidua. *Stem Cells Dev*, vol. 24, no 19, pp. 2269–79. doi: 10.1089/scd.2015.0120. Epub 2015 Aug 24.
- Sanada C., Kuo C.J., Colletti E.J. et al. (2013) Mesenchymal stem cells contribute to endogenous FVIII:c production. *J Cell Physiol*, vol. 228, no 5, pp. 1010–1016. doi: 10.1002/jcp.24247
- Moll G., Rasmussen-Duprez I., von Bahr L. et al. (2012) Are therapeutic human mesenchymal stromal cells compatible with human blood? *Stem Cells*, vol. 30, no 7, pp. 1565–1574. doi: 10.1002/stem.1111
- Oeller M., Laner-Plamberger S., Hochmann S. et al. (2018) Selection of tissue factor-deficient cell transplants as a novel strategy for improving hemocompatibility of human bone marrow stromal cells. *Theranostics*, vol. 8, no 5, pp. 1421–34.
- Andrew M., Vegh P., Johnston M. et al. (1992) Maturation of the Hemostatic System During Childhood. *Blood*, vol. 80, no 8, pp. 1998–2005.
- Toulon P., Berruyer M., Brionne-François M. (2016) Age dependency for coagulation parameters in paediatric populations. *Thrombosis and haemostasis*, vol. 116, no 1, pp. 9–17.
- Viswanathan S., Shi Y., Galipeau J. et al. (2019) Mesenchymal Stem versus Stromal Cells: International Society for Cell and Gene Therapy (ISCT®) Mesenchymal Stromal Cell Committee Position Statement on Nomenclature. *Cytotherapy*, vol. 21, pp. 1019–1024.
- Guillamat-Prats R. (2021) The Role of MSC in Wound Healing, Scarring and Regeneration. *Cells*, vol. 10, pp. 1729–35.
- Uccelli A., Moretta L., Pistoia V. (2006) Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. *Eur. J. Immunol*, vol. 36, pp. 2566–2573. doi: 10.1002/eji.200636416
- Ringdén O., Moll G., Gustafsson B., Sadeghi B. (2022) Mesenchymal Stromal Cells for Enhancing Hematopoietic Engraftment and Treatment of Graft-Versus-Host Disease, Hemorrhages and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front. Immunol*, vol. 13, pp. 839844.
- Murata M., Terakura S., Wake A., et al. (2021) Off-The-Shelf Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell Treatment for Acute Graft-Versus-Host Disease: Real-World Evidence. *Bone Marrow Transplant*, vol. 56, no 10, pp. 2355–66. doi: 10.1038/s41409-021-01304-y
- Thompson M., Mei S.H.J., Wolfe D., et al. (2020) Cell Therapy With Intravascular Administration of Mesenchymal Stromal Cells Continues to Appear Safe: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *E Clinical Medicine*, vol. 19, pp. 100249. doi: 10.1016/j.eclinm.2019.100249
- Jung J.W., Kwon M., Choi J.C., et al. Familial Occurrence of Pulmonary Embolism After Intravenous, Adipose Tissue-Derived Stem Cell Therapy. *Yonsei Med J*, vol. 54, no 5, pp. 1293–1296. doi: 10.3349/ymj.2013.54.5.1293
- Wu Z., Zhang S., Zhou L. et al. (2017) Thromboembolism Induced by Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Infusion: A Report of Two Cases and Literature Review. *Transplant Proc*, vol. 49, no 7, pp. 1656–8. doi: 10.1016/j.transproceed.2017.03.078
- Ringdén O., Leblanc K. (2011) Pooled MSCs for Treatment of Severe Hemorrhage. *Bone Marrow Transplant*, vol. 46, no 8, pp. 1158–1160. doi: 10.1038/bmt.2010.262
- Moll G., Ignatowicz L., Catar R. et al. (2015) Different Procoagulant Activity of Therapeutic Mesenchymal Stromal Cells Derived From Bone Marrow and Placental Decidua. *Stem Cells Dev*, vol. 24, no 19, pp. 2269–79. doi: 10.1089/scd.2015.0120