

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«МИНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ХИРУРГИИ,  
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ГЕМАТОЛОГИИ»

Объект авторского права

УДК 611.013.85-018.1:616.36-008.64-085.275(043.3)

**ЮРКИНА**

**Екатерина Геннадьевна**

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ  
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТАРНО-ПУПОВИННОГО  
КОМПЛЕКСА ЧЕЛОВЕКА И СОЗДАНИЕ НА ИХ ОСНОВЕ  
БИОМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА ДЛЯ  
КОРРЕКЦИИ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Минск 2026

Научная работа выполнена в государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

**Научный руководитель** **Кривенко Светлана Ивановна,**  
доктор медицинских наук, профессор,  
заместитель директора по научной работе  
государственного учреждения «Минский  
научно-практический центр хирургии,  
трансплантологии и гематологии»

**Официальные оппоненты:** **Державец Лилия Александровна,**  
доктор биологических наук, профессор,  
заведующий клинико-диагностической  
лабораторией государственного учреждения  
«Республиканский научно-практический  
центр онкологии и медицинской радиологии  
имени Н.Н. Александрова».

**Жаворонок Ирина Петровна,**  
кандидат биологических наук, доцент,  
заведующий Центром изучения боли  
государственного научного учреждения  
«Институт физиологии НАН Беларуси».

**Оппонирующая организация** ГУ «Республиканский научно-практический  
центр трансфузиологии и медицинских  
биотехнологий»

Защита состоится 27 мая 2026 года в 11.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.03.01 при государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» по адресу: 220087, г. Минск, ул. Семашко, 8, телефон: 8(017)277-20-18, e-mail: gemotol@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в ГУ «Республиканская научная медицинская библиотека».

Автореферат разослан 25 апреля 2026 г.

Ученый секретарь  
совета по защите диссертаций,  
кандидат медицинских наук, доцент



Искров И.А.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Расширение представлений о биологических свойствах различных типов клеток послужило основой для формирования новых подходов к их использованию в медицине для коррекции патологических состояний практически всех систем организма, включая печеночную недостаточность [Li, M. et al., 2022; De Miguel M. P. et al., 2025; Jin Y. X. et al., 2024].

Особый интерес для восстановления функций печени благодаря своим биологическим свойствам, универсальности и клинической безопасности представляют мезенхимальные стволовые клетки (МСК) [Liu Z. et al., 2024; Li Y. H. et al., 2021; Han H. T. et al., 2022], терапия которыми уменьшает повреждение печени, улучшает ее функцию и способствует регенерации печеночной ткани [Jin Y. X. et al., 2024; Liu Z. et al., 2024]. Однако механизмы, лежащие в основе этих процессов, изучены недостаточно [Jin Y. X. et al., 2024; Liu Z. et al., 2024].

МСК из различных тканей организма отличаются по пролиферативной активности, молекулярному профилю, потенциалу дифференцировки и секреции биологически-активных веществ [Jovic D. et al., 2022]. Выбор оптимального тканевого источника МСК для создания биомедицинского клеточного продукта с заданными целевыми свойствами требует изучения данных различий. Для регенерации тканей печени наиболее перспективным источником получения МСК могут стать ткани плацентарно-пуповинного комплекса (ППК), которые характеризуются более высоким уровнем продукции гепатотропных ростовых факторов и цитокинов [Mujde S. et al., 2025].

Вышесказанное определяет актуальность исследований, направленных на изучение особенностей биологических характеристик МСК, полученных из различных тканевых источников. Эти данные позволят научно обосновать подходы к получению МСК с улучшенными биологическими характеристиками для создания на их основе биомедицинских клеточных продуктов с заданными целевыми свойствами, предназначенных для восстановления различных типов тканей организма, в том числе для коррекции печеночной недостаточности.

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Связь работы с научными программами, темами**

Тема диссертации соответствует приоритетным направлениям научно-технической деятельности в Республике Беларусь, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь от 7 мая 2020 г. № 156 «О приоритетных направлениях научной, научно-технической и инновационной деятельности

на 2021-2025 гг.» (пункт 2. Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производство: биотехнологии (геномные и постгеномные, клеточные, микробные, медицинские, промышленные).

Диссертационная работа была выполнена в рамках следующих заданий государственных научно-технических программ и инновационных проектов:

- «Разработать и внедрить метод лечения пациентов с острой печеночной недостаточностью с использованием гепатоцитов человека» (подпрограмма 1 «Инновационные биотехнологии» (задача 5) ГП «Наукоемкие технологии и техника», № государственной регистрации 20214060 от 24.12.2021 г., срок выполнения 01.07.2021 г. – 30.06.2024 г.);

- «Разработать метод получения мезенхимальных стволовых клеток с улучшенными ангиогенными свойствами и алгоритм клеточной терапии критической ишемии при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей» (подпрограмма «Клеточная терапия и высокотехнологичные методы замещения поврежденных органов и тканей» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», № государственной регистрации 20240833 от 15.05.2024 г., срок выполнения 03.01.2024 г. – 30.06.2025 г.);

- «Разработать и внедрить метод лечения цирроза печени в стадии декомпенсации с применением биомедицинского клеточного продукта на основе клеток мезенхимальных человека, обогащенного везикулами» (подпрограмма «Клеточная терапия и высокотехнологичные методы замещения поврежденных органов и тканей» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», № государственной регистрации 20250529 от 05.05.2025 г., срок выполнения 03.01.2025 г. – 31.12.2027 г.).

### **Цель, задачи, объект и предмет исследования**

*Цель исследования* – изучить биологические характеристики МСК из различных тканевых источников, провести их сравнительный анализ и определить стратегию выбора МСК для создания на их основе БМКП с заданными целевыми свойствами для коррекции печеночной недостаточности.

#### *Задачи исследования:*

1. Модифицировать протоколы выделения (децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона) и культивирования МСК из тканей ППК с целью получения большего количества клеток, достаточного для проведения клеточной терапии.

2. Изучить морфологические свойства, потенциал к дифференцировке и пролиферативную активность МСК из тканей плацентарно-пуповинного комплекса, костного мозга и жировой ткани.

3. Провести сравнительный анализ молекулярного профиля и продукции растворимых факторов МСК, полученных из тканей плацентарно-

пуповинного комплекса, костного мозга и жировой ткани.

4. Обосновать выбор тканевого источника МСК с целью получения БМКП для коррекции печеночной недостаточности на основании анализа показателей их пролиферативного и дифференцировочного потенциалов, продукции биоактивных молекул и ростовых факторов.

5. Оценить влияние биомедицинского клеточного продукта на основе МСК из плацентарно-пуповинного комплекса человека на лабораторные показатели пациентов с печеночной недостаточностью, получающих клеточную терапию.

*Объект исследования* – МСК плацентарно-пуповинного комплекса человека; МСК костного мозга человека; МСК жировой ткани человека; кровь пациентов с печеночной недостаточностью.

*Предмет исследования* – биологические характеристики (морфологические, пролиферативная активность, дифференцировочный потенциал, молекулярный профиль и уровень продукции биологически-активных веществ) МСК, полученных из плацентарно-пуповинного комплекса человека, костного мозга и жировой ткани, лабораторные показатели (уровень общего билирубина, уровень общего белка, МНО, MELD) пациентов с печеночной недостаточностью.

### **Научная новизна**

Разработана модификация метода получения МСК из децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона, не уступающая по эффективности выделения клеток наиболее распространенной методике, но обеспечивающая уменьшение повреждающего ферментативного воздействия на клетки мононуклеарной фракции.

Предложен оптимальный состав культуральной среды для получения БМКП на основе МСК, включающий среду DMEM с добавлением в качестве источника ростовых факторов лизированного концентрата тромбоцитов, использование которого повышает клеточный выход не менее чем в 3 раза по сравнению с общепринятыми составами сред для культивирования.

Впервые научно обосновано преимущество использования МСК из хориальной пластинки для создания БМКП для коррекции печеночной недостаточности путем сравнительного анализа показателей пролиферативного и дифференцировочного потенциалов, молекулярного профиля и продукции растворимых факторов МСК человека, полученных из различных тканевых источников.

Установлено, что применение БМКП на основе МСК из хориальной пластинки обеспечивает положительную динамику лабораторных показателей (общий белок, билирубин, МНО) и показателя MELD у пациентов с печеночной недостаточностью.

## **Положения, выносимые на защиту**

1. Модификация протоколов выделения и культивирования МСК из тканей ППК (децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона), заключающиеся в уменьшении концентрации фермента диспазы, исключении фермента ДНКазы и использовании культуральной среды DMEM с добавлением лизированного концентрата тромбоцитов не оказывает влияния на количество получаемых клеток по сравнению с наиболее распространенной методикой.

2. МСК из различных тканевых источников при морфологическом сходстве имеют существенные отличия по способности к дифференцировке и пролиферативной активности. МСК из тканей ППК по способности к дифференцировке в остеогенном и адипогенном направлениях уступают МСК из КМ. МСК из хориальной пластинки, децидуальной ткани, ворсинок хориона обладают более высоким дифференцировочным потенциалом в адипогенном направлении по сравнению с МСК из амниотической мембраны и пупочного канатика. МСК из хориальной пластинки, амниотической мембраны и пупочного канатика, характеризуются более высокой пролиферативной активностью по сравнению с МСК, полученными из других исследуемых тканей.

3. МСК из различных тканей существенно отличаются по экспрессии поверхностных маркеров. МСК из ППК не экспрессируют на своей поверхности маркеры эмбриональных клеток TRA-1-81 и TRA-1-60R, что свидетельствует об их биологической безопасности. МСК из ППК и ЖТ, в отличие от МСК КМ, не экспрессируют на своей поверхности HLA-DR, что свидетельствует об их низкой иммуногенности. МСК из ППК по экспрессии SSEA-4 и GATA4 превосходят МСК ЖТ, а также демонстрируют самую высокую экспрессию CD200 по сравнению с МСК из других тканевых источников.

4. МСК из хориальной пластинки характеризуются наиболее высокими уровнями продукции HGF, sVCAM-1, IL-6 и MCP-3 по сравнению с МСК из КМ и ЖТ, однако уступают МСК из КМ по уровню секреции VEGF-A.

5. БМКП на основе МСК из хориальной пластинки, полученные по модифицированному протоколу, могут быть использованы в комплексном лечении пациентов с печеночной недостаточностью для уменьшения степени тяжести печеночной недостаточности, что подтверждается положительной динамикой лабораторных показателей, а именно увеличением содержания общего белка плазмы крови, стабилизацией коагулопатии со снижением МНО, снижением уровня общего билирубина плазмы крови.

## **Личный вклад соискателя ученой степени**

Соискателем совместно с научным руководителем сформулированы цель и задачи диссертационного исследования, определены методы выполнения работы, спланирована постановка экспериментов. Автором

самостоятельно проанализирована литература по теме диссертационной работы, проведен патентный поиск, сформированы группы сравнения, созданы электронные базы данных, проведена статистическая обработка данных, написаны все разделы диссертации. Соискателем лично получены основные научные результаты диссертации, сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации.

Соискатель, являясь сотрудником научного отдела (лаборатории клеточных биотехнологий) ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» (далее – ГУ «МНПЦ ХТиГ»), принимал непосредственное участие в выделении МСК из плацентарно-пуповинного комплекса (ППК), жировой ткани (ЖТ) и костного мозга (КМ) человека, а также в исследовании биологических характеристик клеток (личный вклад – 90 %).

Имунофенотипирование МСК выполнялось совместно с ведущим научным сотрудником научного отдела ГУ «МНПЦ ХТиГ», к.б.н., доцентом Смольниковой В.В.; проведение мультиплексного анализа цитокинов осуществлялось совместно с сотрудниками лаборатории НЛА-типирования ГУ «МНПЦ ХТиГ» Старцевой А.Ю., Янушевской Е.А.; цитогенетические исследования выполнялись на базе клинично-диагностической лаборатории службы трансплантации костного мозга ГУ «МНПЦ ХТиГ» совместно с к.б.н., доцентом Лебедевой Т.В., старшим научным сотрудником научного отдела Мукадесовой А.М.; отбор пациентов, получение информированного согласия на проведение клеточной терапии, анализ клинично-лабораторных показателей пациентов после введения МСК из ППК проводился совместно с врачом-хирургом, к.м.н., доцентом Ефимовым Д.Ю., заведующим отделом трансплантологии (трансплантации печени и гепатобилиарной хирургии), к.м.н., доцентом Коротковым С.В., заведующим отделением трансплантации, к.м.н., доцентом Штуричем И.П. (личный вклад – 70 %).

### **Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов**

Результаты исследований и основные положения диссертации доложены и представлены на:

1) Республиканском научно-практическом семинаре «Современные клеточные технологии в медицине» (г. Минск, Республика Беларусь, 5 декабря 2019 г.);

2) Международной научной конференции «Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии» (г. Минск, Республика Беларусь, 20-21 мая 2021 г.);

3) V-ом Российском национальном конгрессе с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (г. Москва, Российская

Федерация, 27-29 сентября 2021 г.);

4) IX Республиканском съезде трансфузиологов и гематологов с международным участием в честь 90-летия службы крови Республики Беларусь (г. Минск, Республика Беларусь, 11-12 мая 2023 г.);

5) ISLS Single Topic Symposium (г. Сеул, Южная Корея, 18-19 марта 2024 г.);

6) XII Всероссийском съезде трансплантологов с международным участием (г. Москва, Российская Федерация, 30 сентября - 2 октября 2024 г.);

7) VI Национальном конгрессе по регенеративной медицине (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 13-15 ноября 2024 г.);

8) Liver transplantation updates 2025 (г. Инчхон, Южная Корея, 5-6 сентября 2025 г.);

9) VII Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (г. Москва, Российская Федерация, 15-17 сентября 2025 г.);

10) XXXII Международный конгресс ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ «Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии», посвященный 80-летию Победы в Великой Отечественной войне (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 24-26 сентября 2025 г.);

11) Invitation to Industry 18th STRMS Congress (г. Токио, Япония, 22-25 октября 2025 г.).

Результаты диссертации внедрены в работу ГУ «МНПЦ ХТиГ» (5 актов о внедрении, 1 инструкция по применению, утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь).

#### **Опубликованность результатов диссертации**

По теме диссертационной работы опубликовано 23 научные работы, в том числе 4 статьи в рецензируемых ВАК РБ научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, материалов конференций, съездов, конгрессов – 7, тезисов докладов в сборниках научных трудов – 11, инструкция по применению метода – 1. Общий объем опубликованных материалов составляет 4,74 авторских листа.

#### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 109 страницах машинописного текста, содержит 23 рисунка, 10 таблиц. Работа состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературных источников, материалов и методов исследований, 4 глав результатов собственных исследований, заключения, библиографического списка, включающего 136 источников (1 – на русском языке, 135 – на английском языке) и 23 собственных публикаций соискателя, 10 приложений.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы и методы исследований

Объектами исследования являлись МСК плацентарно-пуповинного комплекса человека ( $n = 88$ ), МСК костного мозга человека ( $n = 21$ ), МСК жировой ткани человека ( $n = 37$ ), кровь пациентов с печеночной недостаточностью ( $n = 40$ ).

Выделение МСК из децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона проводили путем ферментативного расщепления тканей по известному протоколу [Pelekanos et al., 2016] с модификациями. Выделение МСК из амниотической мембраны, КМ и ЖТ проводили по разработанным ранее протоколам [Han K. et al., 2008; Merzlikina N. V. et al., 2004; Кривенко С. И. и соавт., 2013]. Из пупочного канатика клетки получали методом экспланта [Beeravolu N. et al., 2017]. В качестве среды для культивирования использовали DMEM (Thermo Fisher Scientific, США), содержащую 10 % концентрата тромбоцитов лизированного (ТУ ВУ 100660677.002-2014). Жизнеспособность клеток определяли общепринятым методом по исключению трипанового синего.

Для сравнения скорости пролиферации *in vitro* для каждой исследуемой культуры клеток определяли значение PDT (время удвоения популяции клеток) по формуле:  $PDT = t \times \ln 2 / \ln (N_f / N_i)$ , в которой  $t$  - время культивирования в часах,  $N_i$  - количество посаженных клеток, а  $N_f$  – количество выращенных клеток. Дифференцировку в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях проводили в соответствии с протоколами к наборам Adipogenesis Differentiation Kit (Thermo Fisher Scientific, США).

Определение маркерных генов МСК проводили методом проточной цитофлуориметрии на цитофлюориметре «FACSCanto» (США). Результаты учитывали в рабочей программе «FACSDiva». Определение концентраций продуктов секреции МСК проводили на анализаторе Luminex 200 мультиплексным анализом с использованием магнитных частиц в составе наборов Milliplex MAP Kit (Merck KGaA, Германия). Анализ кариотипа МСК из ППК проводили методом дифференциальной окраски хромосом.

Статистическую обработку результатов исследований выполняли с помощью пакета прикладных программ для медико-биологических исследований STATISTICA (Version 10, StatSoft Inc.) и Microsoft Excel. Проверку соответствия данных нормальному распределению осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Числовые значения представляли в виде медианы [минимум; максимум]. Для сравнения данных, не подчинявшихся закону нормального распределения, применяли непараметрические методы статистики. Для оценки достоверности различий между двумя независимыми группами использовали U-критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test).

Оценку статистической значимости различий между тремя и более группами проводили с применением Н-критерия Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis H test). Для сопоставления двух выборок по частоте встречаемости интересующего эффекта использовали Критерий Фишера (F-test). Различия считались достоверными при значении  $p < 0,05$ .

### Результаты собственных исследований

*Модификация методики изоляции МСК из децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона.* Модификация рекомендуемого протокола выделения МСК из тканей ППК (децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона), заключающаяся в уменьшении концентрации фермента диспазы с 4,2 мг/мл до 0,3 мг/мл и исключения из протокола ДНКазы, не оказывала влияния на количество получаемых клеток, по сравнению с наиболее распространенной методикой получения МСК ( $165,6 [44,0; 1960,0] \times 10^6$  клеток и  $103,7 [50,7; 196,0] \times 10^6$  клеток соответственно,  $n = 4$ ,  $p = 0,03$ , таблица 1).

Таблица 1 – Варианты модификации протокола изоляции МСК из децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона

| № | Концентрация коллагеназы I типа, мг/мл | Концентрация диспазы, мг/мл | Концентрация ДНКазы, мг/мл | Время ферментации, мин | Количество изолированных клеток, $\times 10^6$ (n = 4) | p           |
|---|--|-----------------------------|----------------------------|------------------------|--|-------------|
| 1 | 1,0                                    | 4,2                         | 10,0                       | 120                    | 103,7 [50,7; 196,0]                                    | <b>0,03</b> |
| 2 | 1,0                                    | 0,3                         | –                          | 90                     | 165,6 [44,0; 1960,0]                                   | –           |
| 3 | 1,0                                    | -                           | -                          | 120                    | 55,4 [44,4; 60,5]                                      | <b>0,03</b> |

Состав среды культивирования оказывал существенное влияние на жизнеспособность и пролиферативную активность МСК, и, в конечном итоге, являлся одним из определяющих качество БМКП факторов, что необходимо учитывать при выборе технологии их производства. На основании полученных данных о результатах культивирования МСК на средах разного состава был сделан вывод о том, что оптимальной средой культивирования, обеспечивающей поддержание высокой пролиферативной активности и жизнеспособности клеток, является среда DMEM, содержащая 10 % тромболизата. Предложенная модификация протокола выделения и методика культивирования в дальнейшем были использованы при разработке технологии получения БМКП на основе МСК из ППК (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика клеточных культур МСК при культивировании на различных средах

| № эксперимента | Среда культивирования              | Пассаж клеточной культуры | Количество снятых клеток, $\times 10^6$ (n = 5) | p            |
|----------------|------------------------------------|---------------------------|---|--------------|
| 1              | DMEM/F12, содержащая 10 % ЭТС      | P <sub>2</sub>            | 1,86 [1,05; 2,88]                               | <b>0,008</b> |
| 2              | DMEM, содержащая 15 % ЭТС          | P <sub>2</sub>            | 1,42 [0,90; 1,74]                               | <b>0,008</b> |
| 3              | DMEM, содержащая 10 % тромболизата | P <sub>2</sub>            | 5,77 [3,20; 8,44]                               | –            |

Разработан комплект научно-технической документации и получено регистрационное удостоверение Министерства здравоохранения на БМКП (№ БМКП-7.114860: «Клетки мезенхимальные из плацентарно-пуповинного комплекса человека» БК-7.17-2212 от 10.11.2023 г.).

*Морфологические свойства, потенциал к дифференцировке и пролиферативная активность МСК из тканей плацентарно-пуповинного комплекса, костного мозга и жировой ткани.* Был проведен сравнительный анализ морфологических характеристик культур МСК из децидуальной ткани (n = 14), хориальной пластинка (n = 21), ворсинок хориона (n = 18), амниотической мембраны (n = 18), пупочного канатика (n = 17), ЖТ (n = 21) и КМ (n = 21). МСК, полученные из различных источников, имели типичную фибробластоподобную веретеновидную морфологию и демонстрировали высокую способность к адгезии на пластик при стандартных условиях культивирования (рисунок 1).

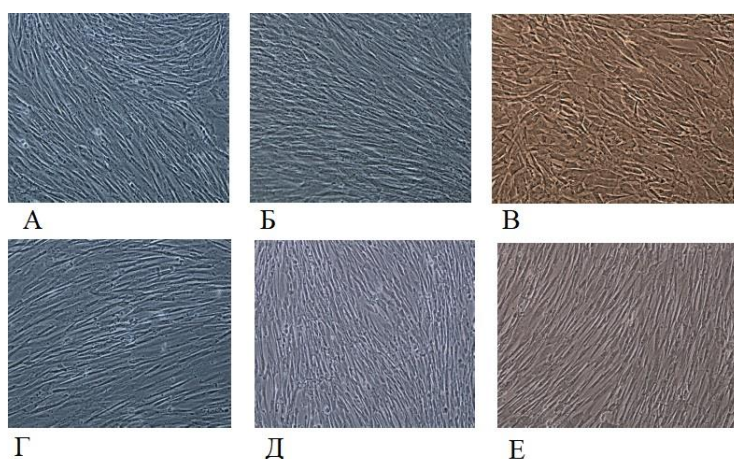


Рисунок 1 – Морфология культур МСК, выделенных из хориальной пластинки (А), ворсинок хориона (Б), жировой ткани (В), децидуальной ткани (Г), пупочного канатика (Д) и костного мозга (Е)  $\times 100$ , ФК

Для оценки дифференцировочного потенциала МСК, полученных из различных тканевых источников, в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях, что является отличительной особенностью и важнейшей

характеристикой данного типа клеток, были проанализированы МСК, выделенные из децидуальной ткани (n = 9), хориальной пластинки (n = 11), ворсинок хориона (n = 10), амниотической мембраны (n = 8), пупочного канатика (n = 8), ЖТ (n = 9) и КМ (n = 8). Несмотря на то, что МСК из ППК, ЖТ и КМ характеризовались сопоставимым дифференцировочным потенциалом в хондрогенном направлении, они отличались по способности к дифференцировке в адипогенном и остеогенном направлениях (рисунок 2).

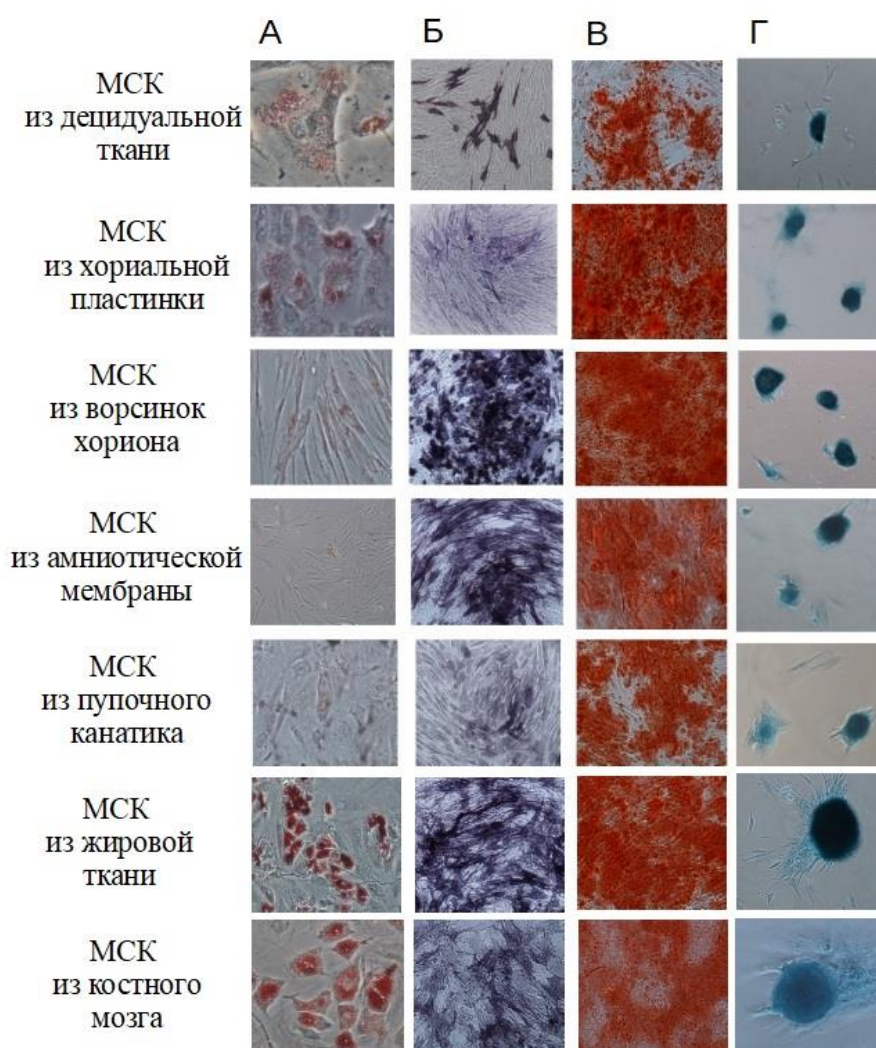


Рисунок 2 – Сравнительная характеристика дифференцировочного потенциала МСК, полученных из тканей ППК, ЖТ и КМ в адипогенном (А), остеогенном (Б, В) и хондрогенном (Г) направлениях  $\times 100$ , ФК

МСК из децидуальной ткани, хориальной пластинки, ворсинок хориона, ЖТ и КМ характеризовались более высоким потенциалом дифференцировки в адипогенном направлении по сравнению с МСК из амниотической мембраны и пупочного канатика. Более высокая продукция внеклеточных преципитатов солей кальция наблюдалась в культурах МСК, полученных из хориальной пластинки, ворсинок хориона и амниотической мембраны, что свидетельствует об

их более высоком дифференцировочном потенциале в остеогенном направлении. МСК из КМ (15 [14; 21] сут, n = 8) статистически значимо по способности к дифференцировке в остеогенном направлении превосходили МСК из децидуальной ткани (21 [16; 29] сут, p = 0,010, n = 9), хориальной пластинки (20 [14; 27] сут, p = 0,040, n = 11) и амниотической мембраны (21 [21; 21] сут, p = 0,008, n = 8, Mann-Whitney U-test). МСК, выделенные из ЖТ и КМ, в целом характеризовались более высоким по сравнению с МСК ППК потенциалом дифференцировки в адипогенном направлении.

Для оценки пролиферативной активности были проанализированы следующие культуры МСК, полученных из различных тканевых источников: 81 из децидуальной ткани, 96 из хориальной пластинки, 84 из ворсинок хориона, 96 из амниотической мембраны, 93 из пупочного канатика, 96 из жировой ткани и 93 из костного мозга на P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>5</sub>, P<sub>7</sub> и P<sub>10</sub> пассажах. МСК, выделенные из пупочного канатика, амниотической мембраны, хориальной пластинки. ЖТ и КМ обладали более высокой пролиферативной активностью по сравнению с МСК из децидуальной ткани и ворсинок хориона (таблица 3).

Таблица 3 – Пролиферативная активность МСК из пупочного канатика по сравнению с МСК других тканей ППК, ЖТ и КМ на P<sub>2</sub>

| Тип ткани              | Время удвоения популяции клеток, ч | Уровень значимости p |
|------------------------|------------------------------------|----------------------|
| Пупочный канатик       | 25,74 [17,62; 63,17]               | –                    |
| Амниотическая мембрана | 32,46 [20,21; 56,55]               | 0,2000               |
| Децидуальная ткань     | 61,02 [26,82; 237,70]              | <b>&lt;0,0001</b>    |
| Хориальная пластинка   | 38,58 [18,15; 48,48]               | <b>0,0200</b>        |
| Ворсинки хориона       | 64,00 [29,15; 128,03]              | <b>&lt;0,0001</b>    |
| Костный мозг           | 45,67 [23,52; 211,41]              | <b>0,0020</b>        |
| Жировая ткань          | 40,86 [21,85; 57,27]               | <b>0,0200</b>        |

МСК пупочного канатика (время удвоения популяции клеток – 25,74 [17,62; 63,17] ч) характеризовались более высокой пролиферативной активностью по сравнению с МСК из других тканевых источников, за исключением МСК амниотической мембраны (32,46 [20,21; 56,55] ч).

При анализе количества клеток на единицу площади дна культурального флакона на P<sub>2</sub> наиболее высокий клеточный выход наблюдали в культурах МСК, выделенных из пупочного канатика (102693 [31589; 151048] клеток на см<sup>2</sup>), амниотической мембраны (72857 [36327; 121333] клеток на см<sup>2</sup>) и хориальной пластинки (70286 [46857; 148000] клеток на см<sup>2</sup>).

Таким образом, при схожих морфологических характеристиках и некоторых различиях в дифференцировочном потенциале МСК ППК обладали очевидным

преимуществом в выраженности пролиферативной активности, что существенно сокращало сроки культивирования при получении БМКП на их основе.

*Сравнительный анализ молекулярного профиля и продукции растворимых факторов МСК, полученными из тканей плацентарно-пуловинного комплекса, костного мозга и жировой ткани.* В соответствии с критериями International Society for Cell & Gene Therapy, человеческие МСК должны экспрессировать на своей поверхности CD73, CD90 и CD105 при отсутствии гемопоэтических маркеров CD34 и CD45. В нашем исследовании не наблюдалось различий в экспрессии этих биомаркеров на поверхности МСК из различных тканевых источников.

МСК из изученных тканевых источников не экспрессировали поверхностные маркеры эмбриональных клеток TRA-1-81 и TRA-1-60R, что свидетельствует о их биологической безопасности в отношении потенциального неконтролируемого роста и трансформации в опухолевые клетки. Подтверждением низкой иммуногенности МСК из ППК и ЖТ является отсутствие экспрессии HLA-DR в отличие от МСК КМ (27,5 [0; 90,5] %).

CD200 является важным биомаркером иммунорегуляторного и противовоспалительного потенциала. МСК из ППК в целом характеризовались высоким уровнем экспрессии данного маркера и по данному показателю статистически значимо превосходили МСК из ЖТ и КМ (таблица 4).

Таблица 4 – Уровень экспрессии CD200 МСК из ППК и КМ по отношению к МСК из ЖТ

| Тип ткани                      | Экспрессия CD200, % | p                |
|--------------------------------|---------------------|------------------|
| Жировая ткань (n = 8)          | 0,8 [0,1; 18,7]     | –                |
| Децидуальная ткань (n = 8)     | 61,1 [20,1; 99,5]   | <b>&lt;0,001</b> |
| Хориальная пластинка (n = 8)   | 94,9 [28,6; 97,6]   | <b>&lt;0,001</b> |
| Ворсинки хориона (n = 8)       | 50,7 [2,9; 95,5]    | <b>0,001</b>     |
| Амниотическая мембрана (n = 8) | 99,0 [6,8; 100,0]   | <b>0,001</b>     |
| Пупочный канатик (n = 8)       | 98,8 [90,2; 99,7]   | <b>&lt;0,001</b> |
| Костный мозг (n = 8)           | 25,9 [6,9; 54,3]    | <b>0,003</b>     |

Уровень экспрессии SSEA-4 был сопоставим для МСК из тканей ППК (от 46,7 [28,5; 64,1] % до 74,7 [52,1; 95,3] %). По данному показателю МСК из ППК существенно превосходили МСК из ЖТ (n = 8), хотя и уступали МСК из КМ (97,0 [90,6; 99,5] %, n = 8).

Важным биомаркером МСК, отвечающим за пролиферативную активность и дифференцировочный потенциал, а также участвующим в регуляции процессов старения в клетке, является GATA4. Данный биомаркер экспрессировался на более высоком уровне в культурах МСК, изолированных

из децидуальной ткани 94,6 [5,4; 99,4] % ( $p = 0,0240$ ,  $n = 8$ ), хориальной пластинки 92,3 [4,2; 97,6] % ( $p = 0,0410$ ,  $n = 8$ ) и КМ 87,3 [7,3; 96,1] % ( $p = 0,0460$ ,  $n = 8$ ), которые по данному показателю статистически значимо превосходили МСК из ЖТ 25,3 [0,1; 90,6] % ( $n = 8$ , Mann-Whitney U-test).

Реализация биологических эффектов МСК в организме происходит посредством секреции широкого спектра факторов роста и цитокинов, однако наиболее значимую роль в реализации противовоспалительного, ангиогенного и антифибротического действия играют HGF, VEGF-A, sVCAM-1, IL-6 и MCP-3. Наиболее высоким уровнем продукции HGF характеризовались МСК из ворсинок хориона (68526,89 [18907,51; 1477592,01] пг/мл,  $n = 11$ ) и хориальной пластинки (59229,67 [11901,48; 142144,71] пг/мл,  $n = 13$ ), по сравнению с МСК из других тканевых источников ( $p < 0,001$ , Kruskal-Wallis H test, рисунок 3).

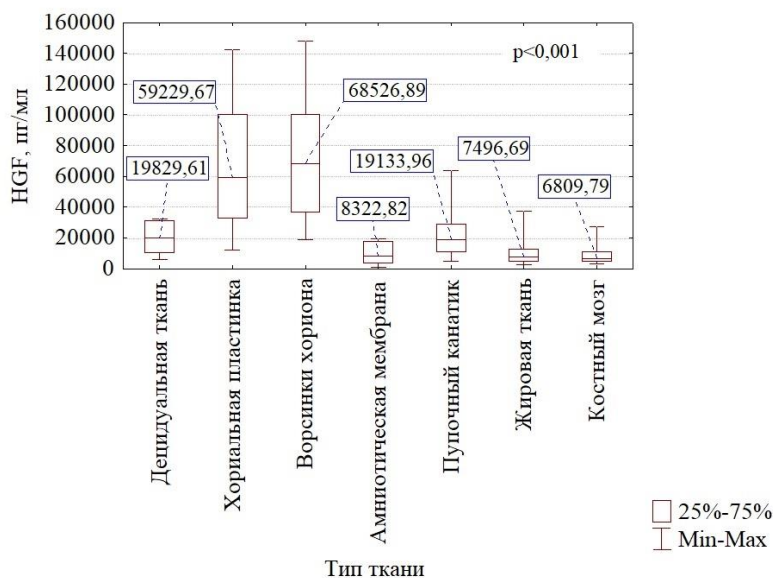


Рисунок 3 – Уровень секреции HGF в образцах супернатантов МСК, выделенных из тканей ППК, ЖТ и КМ

Другим важным фактором роста, играющим одну из ключевых ролей в процессах регенерации, является VEGF-A, по продукции которого МСК из ППК уступают МСК из КМ ( $n = 10$ ) и ЖТ ( $n = 10$ ). Среди тканей ППК наиболее высокие показатели VEGF-A регистрировались для МСК децидуальной ткани (134,95 [3,20; 719,13] пг/мл,  $n = 10$ ) и хориальной пластинки (88,96 [3,17; 1302,25] пг/мл,  $n = 11$ ,  $p < 0,001$ , Kruskal-Wallis H test, рисунок 4).

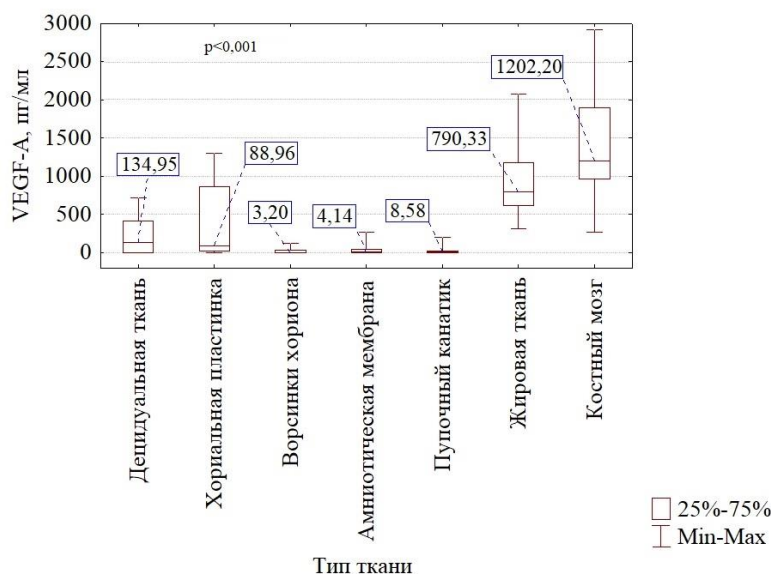


Рисунок 4 – Уровень секреции VEGF-A в образцах супернатантов МСК, выделенных из тканей ППК, ЖТ и КМ

МСК из хориальной пластинки (29491 [16543; 119806] пг/мл, n = 13) также демонстрировали наиболее высокие уровни секреции sVCAM-1, статистически значимо превосходящие аналогичный показатель для МСК ЖТ (14631 [4523; 21843] пг/мл, n = 13) и КМ (15863 [6948; 27977] пг/мл, n = 13). Также по данному показателю сопоставимо высокий уровень продукции sVCAM-1 демонстрировали МСК ворсинок хориона (26761 [14748; 108798] пг/мл, n = 13, рисунок 5).

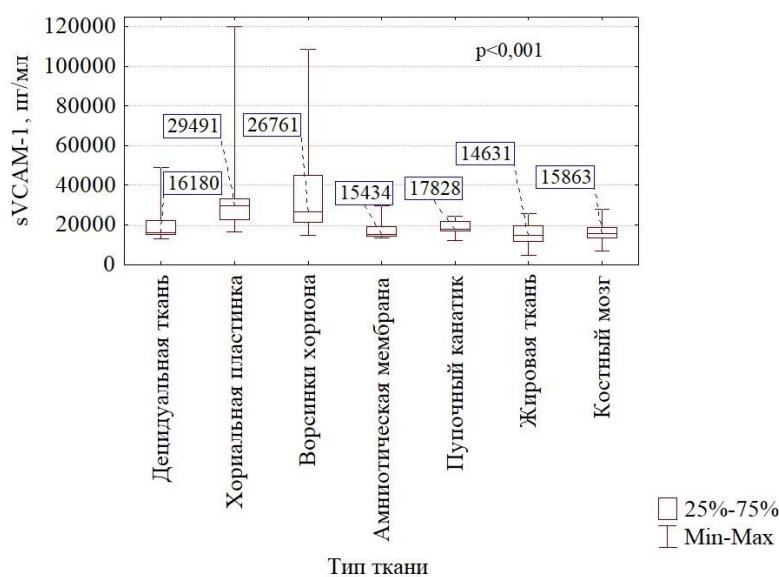


Рисунок 5 – Уровень секреции sVCAM-1 в образцах супернатантов МСК, выделенных из тканей ППК, ЖТ и КМ

МСК из хориальной пластинки (3779,75 [2118,53; 10000,00] пг/мл) и ворсинок хориона (3833,05 [878,82; 10143,00] пг/мл) характеризовались наиболее высоким уровнем продукции ИЛ-6 по сравнению с МСК из других тканей ППК, ЖТ (2020,05 [449,01; 3148,42] пг/мл,  $p < 0,01$ ,  $n = 13$ ) и КМ (1902,31 [1048,22; 2454,05] пг/мл,  $p < 0,01$ ,  $n = 13$ ).

Наиболее высокие уровни МСР-3, который участвует в хоуминге и способствует миграции в очаг повреждения, продуцировали МСК из пупочного канатика (998,42 [11,60; 1899,72] пг/мл) и хориальной пластинки (373,99 [24,16; 3514,53] пг/мл). По данному показателю они статистически значимо превосходили МСК из КМ (47,50 [3,80; 585,77] пг/мл) и ЖТ (90,58 [12,88; 232,35] пг/мл,  $p < 0,001$ , Kruskal-Wallis H test, рисунок 6).

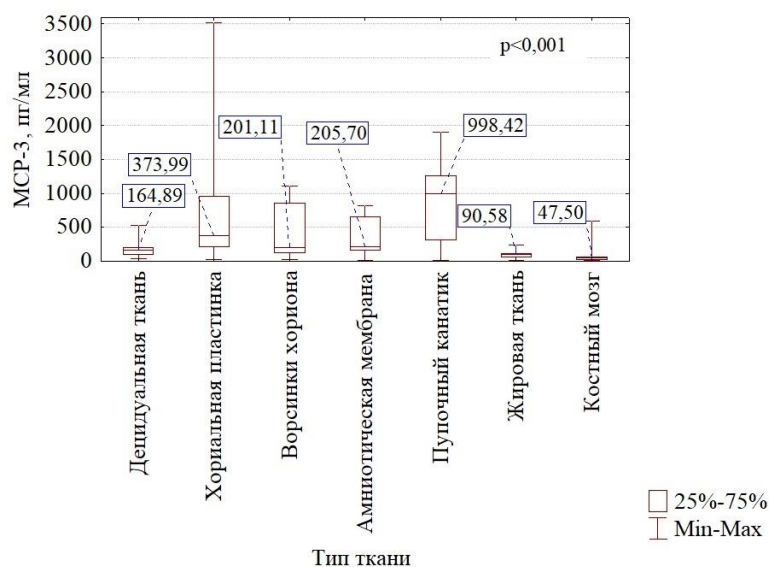


Рисунок 6 – Уровень секреции МСР-3 в образцах супернатантов МСК, выделенных из тканей ППК, ЖТ и КМ

Проведенный анализ молекулярных профилей и продукции растворимых молекул свидетельствует о биобезопасности МСК и позволяет определить преимущества каждого типа исследованных клеток с точки зрения выбора оптимального тканевого источника для создания БМКП с заданными целевыми свойствами.

*Получение БМКП на основе МСК для коррекции печеночной недостаточности и оценка эффективности его применения на основании анализа лабораторных показателей пациентов.* МСК из хориальной пластинки характеризовались высокими показателями пролиферативной активности (38,58 [18,15; 48,48] ч), потенциалов дифференцировки, а также уровней продукции наиболее значимых для патогенетической коррекции печеночной недостаточности биоактивных молекул и ростовых факторов: CD200

94,9 [28,6; 97,6] %, SSEA-4 56,9 [31,8; 62,8] %, GATA4 92,3 [4,2; 97,6] %, HGF (59229,67 [11901,48; 142144,71] пк/мл), VEGF-A (88,96 [3,17; 1302,25] пк/мл), sVCAM-1 (29491 [16543; 119806] пг/мл), IL-6 (3779,75 [2118,53; 10000,00] пк/мл) и MCP-3 (373,99 [24,16; 3514,53] пк/мл), что в комплексе обосновывает их выбор с целью получения на их основе БМКП для лечения пациентов с патологией печени.

Клеточная терапия пациентов с печеночной недостаточностью с использованием БМКП на основе хориальной пластинки не вызывала нежелательных реакций, обеспечивала улучшение функции печени и снижала степень тяжести печеночной недостаточности, что подтверждалось положительной динамикой лабораторных показателей. Показатель содержания общего белка в плазме крови увеличивался с 52 [50; 62] г/л до 62 [56; 70] г/л ( $p = 0,0001$ ), стабилизация коагулопатии с 2,0 [1,4; 2,2] до 1,44 [1,2; 1,7], а также значимое снижение уровня общего билирубина с 336 [119; 468] ммоль/л до 144 [29; 186] ммоль/л ( $p = 0,0080$ ) и соответственно снижение показателя MELD с 29 [24; 33] до 18 [8; 20] ( $p = 0,0020$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. Модификация протокола выделения МСК из тканей ППК (децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона), заключающаяся в уменьшении концентрации фермента диспазы с 4,2 мг/мл до 0,3 мг/мл и исключения из протокола ДНКазы, не оказывает влияния на количество получаемых клеток, по сравнению с наиболее распространенной методикой. При культивировании в среде, содержащей 10 % тромблизата, количество клеток превосходит аналогичный показатель для сред DMEM/F12, содержащей 10 % ЭТС, и DMEM, содержащей 15 % ЭТС, в 3-4 раза, соответственно [1–А; 3–А; 5–А; 12–А].

2. МСК из ППК, ЖТ и КМ характеризуются различным дифференцировочным потенциалом. По способности к дифференцировке в остеогенном направлении МСК из КМ (15 [14; 21] сут) статистически значимо превосходят МСК из децидуальной ткани (21 [16; 29] сут,  $p = 0,010$ ), хориальной пластинки (20 [14; 27] сут,  $p = 0,040$ ) и амниотической мембраны (21 [21; 21] сут,  $p = 0,008$ ). МСК из децидуальной ткани, хориальной пластинки, ворсинок хориона, ЖТ и КМ обладают более высоким дифференцировочным потенциалом в адипогенном направлении по сравнению с МСК из амниотической мембраны и пупочного канатика, однако данные различия не являются статистически значимыми. МСК тканей ППК имеют разный потенциал пролиферативной активности. МСК, выделенные из пупочного канатика, амниотической мембраны и хориальной пластинки (время удвоения популяции клеток – 25,74 [17,62; 63,17] ч, 32,46 [20,21; 56,55] ч и 38,58 [18,15; 48,48] ч соответственно) обладают более высокой пролиферативной активностью по сравнению с МСК, полученными из других исследуемых тканей. Наиболее высоким клеточным выходом на  $P_2$  характеризуются МСК из пупочного канатика (102693 [31589; 151048] клеток на  $см^2$ ), амниотической мембраны (72857 [36327; 121333] клеток на  $см^2$ ) и хориальной пластинки (70286 [46857; 148000] клеток на  $см^2$ ) [1–А; 2–А; 17–А; 20–А].

3. МСК из ППК, ЖТ и КМ не экспрессируют на своей поверхности маркеры эмбриональных клеток TRA-1-81 и TRA-1-60R, что свидетельствует об их биологической безопасности. В отличие от МСК КМ, МСК из ППК и ЖТ не экспрессируют на своей поверхности HLA-DR, что свидетельствует об их низкой иммуногенности. МСК плацентарного происхождения в целом характеризуются высоким уровнем экспрессии CD200 (от 50,7 [2,9; 95,5] % до 99,0 [6,8; 100,0] %) и по данному показателю статистически значимо превосходят МСК из ЖТ (0,8 [0,1; 18,7] %) и КМ (25,9 [6,9; 54,3] %). МСК из

ППК демонстрируют достаточно высокий уровень экспрессии SSEA-4, хотя и уступают по данному показателю МСК из КМ (97,0 [90,6; 99,5] %,  $p = 0,0033$ ). GATA4 экспрессируется на более высоком уровне в культурах МСК, изолированных из децидуальной ткани (94,6 [5,4; 99,4] %,  $p = 0,0240$ ), хориальной пластинки (92,3 [4,2; 97,6] %,  $p = 0,0410$ ) и КМ (87,3 [7,3; 96,1] %,  $p = 0,0460$ ), которые по данному показателю статистически значимо превосходят МСК из ЖТ (25,3 [0,1; 90,6] %). Выявленные особенности молекулярного профиля МСК из ППК обосновывают выбор данного типа клеток для иммунокоррекции, регенерации повреждений и уменьшения воспаления при печеночной недостаточности [3–А].

4. МСК из хориальной пластинки (59229,67 [11901,48; 142144,71] пг/мл) и ворсинок хориона (68526,89 [18907,51; 1477592,01] пг/мл) характеризуются наиболее высоким уровнем продукции HGF по сравнению с МСК из других тканевых источников ( $p < 0,001$ , Kruskal-Wallis H test). МСК ППК продуцируют VEGF-A, однако по данному показателю уступают МСК из КМ и ЖТ. Наиболее высокие показатели уровней VEGF-A регистрируются для МСК хориальной пластинки (88,96 [3,17; 1302,25] пг/мл) и децидуальной ткани (134,95 [3,20; 719,13] пг/мл,  $p < 0,001$ , Kruskal-Wallis H test). МСК из хориальной пластинки (29491 [16543; 119806] пг/мл) демонстрируют наиболее высокие уровни секреции sVCAM-1, статистически значимо превосходя по данному показателю МСК ЖТ (14631 [4523; 21843] пг/мл) и КМ (15863 [6948; 27977] пг/мл). Также МСК из хориальной пластинки (3779,75 [2118,53; 10000,00] пг/мл) и ворсинок хориона (3833,05 [878,82; 10143,00] пг/мл) характеризуются наиболее высоким уровнем продукции IL-6 по сравнению с МСК из других тканей ППК, ЖТ (2020,05 [449,01; 3148,42] пг/мл,  $p < 0,01$ ) и КМ (1902,31 [1048,22; 2454,05] пг/мл,  $p < 0,01$ ). Наиболее высокие уровни MCP-3 продуцируют МСК из пупочного канатика (998,42 [11,60; 1899,72] пг/мл) и хориальной пластинки (373,99 [24,16; 3514,53] пг/мл), превосходя по данному показателю МСК из КМ (47,50 [3,80; 585,77] пг/мл) и ЖТ (90,58 [12,88; 232,35] пг/мл,  $p < 0,001$ , Kruskal-Wallis H test) [2–А; 4–А; 6–А; 7–А; 8–А; 9–А; 13–А; 20–А].

5. МСК из хориальной пластинки характеризуются высокими показателями пролиферативного и дифференцировочного потенциалов, продукции наиболее значимых для патогенетической коррекции печеночной недостаточности биоактивных молекул и ростовых факторов, что в комплексе обосновывает выбор данного типа клеток с целью получения на их основе БМКП для лечения пациентов с патологией печени. Использование БМКП на основе МСК хориальной пластинки в комплексной терапии данной категории пациентов не вызывает побочных эффектов и обеспечивает уменьшение степени тяжести печеночной недостаточности (снижение

показателя MELD с 29 [24; 33] до 18 [8; 20],  $p = 0,0020$ ), что подтверждается положительной динамикой лабораторных показателей, а именно увеличением содержания общего белка в плазме крови с 52 [50; 62] г/л до 62 [56; 70] г/л ( $p = 0,0001$ ), стабилизацией коагулопатии со снижением МНО с 2,0 [1,4; 2,2] до 1,44 [1,2; 1,7], а также снижением уровня общего билирубина с 336 [119; 468] ммоль/л до 144 [29; 186] ммоль/л ( $p = 0,0080$ ) соответственно [2–А; 6–А; 7–А; 8–А; 9–А; 10–А; 11–А; 14–А; 15–А; 16–А; 17–А; 18–А; 19–А; 20–А; 21–А; 22–А; 23–А].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. При получении МСК из плацентарно-пуповинного комплекса как в исследовательских целях, так и в клинической практике рекомендуется руководствоваться модифицированным протоколом, изложенным в лабораторно-технологическом регламенте ГУ «МНПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии» «Получение мезенхимальных стволовых клеток пуповинно-плацентарного происхождения для клинического применения» от 07.11.2021 г.

2. При необходимости получить БМКП на основе МСК в короткие сроки и с наибольшим клеточным выходом рекомендуется использовать МСК из пупочного канатика и амниотической мембраны, так как данные клетки обладают преимуществом в выраженности пролиферативной активности. Выход клеток с единицы площади дна культурального флакона на  $\text{см}^2$  в культурах МСК из пупочного канатика и амниотической мембраны практически в 2 раза превосходят МСК из других тканевых источников.

3. Для терапии пациентов с печеночной недостаточностью рекомендуется применять МСК из хориальной пластинки ППК, характеризующихся наиболее высоким уровнем продукции гепатотропных ростовых факторов.

## **СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ**

### **Статьи в научных изданиях, соответствующие части первой пункта 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий**

1–А. Выделение и характеристика мезенхимальных стволовых клеток, полученных из плацентарно-пуповинного комплекса человека / Е. Г. Петровская (Е. Г. Юркина), С. И. Кривенко, Е. А. Примакова, А. А. Сыманович, Е. А. Назарова, И. А. Романова, Н. И. Дедюля, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневич, А. А. Чистый, Д. А. Никитин // *Новости медико-биологических наук.* – 2023. Т. 23, № 2. – С. 42–48.

2–А. Применение мезенхимальных клеток из плацентарно-пуповинного комплекса человека в коррекции печеночной недостаточности у пациентов с декомпенсированным циррозом печени / Е. Г. Юркина, Д. Ю. Ефимов, С. И. Кривенко, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, А. А. Сыманович, Н. И. Дедюля, В. В. Смольникова, Е. А. Янушевская, И. А. Романова, В. В. Сазановец, Д. Н. Садовский, И. П. Штурич, С. В. Коротков, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // *Доклады Национальной академии наук Беларуси.* – 2024. – Т. 68, № 6. – С. 483–492.

3–А. Сравнительный анализ профиля экспрессии молекулярных маркеров мезенхимальных стволовых клеток, полученных из тканей плацентарно-пуповинного комплекса, жировой ткани и костного мозга / Е. Г. Юркина, С. И. Кривенко, В. В. Смольникова, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, А. А. Сыманович, Н. И. Дедюля, И. А. Романова, Д. Ю. Ефимов, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // *Доклады Национальной академии наук Беларуси.* – 2025. – Т. 69, № 4. – С. 314–321.

4–А. Сравнительный анализ продукции растворимых факторов мезенхимальными стволовыми клетками плацентарно-пуповинного комплекса, жировой ткани и костного мозга / Е. Г. Юркина, С. И. Кривенко, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, А. А. Сыманович, Н. И. Дедюля, И. А. Романова, Е. А. Янушевская, В. В. Смольникова, Д. Ю. Ефимов // *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности.* – 2025. – № 3. – С. 34–41.

### **Материалы съездов, конференций, симпозиумов, тезисы докладов**

5–А. Выделение и культивирование мезенхимальных стволовых клеток из плацентарных тканей человека / Е. Г. Петровская (Е. Г. Юркина), Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, Н. И. Дедюля, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневич, А. М. Мукадесова, А. В. Бакун, С. И. Кривенко // *Фундаментальные и прикладные науки – медицине : тр. междунар. науч. конф., Минск, 9 окт. 2020 г. – [Опубл. в журн.] Новости медико-биологических наук.* – 2020. – Т. 20, № 3. – С. 54–55.

6–А. Placental chorionic plate mesenchymal stem cells for the treatment of decompensated liver cirrhosis: the results of a pilot clinical case series / D. Efimov, E. Petrovskaya (E. Yurkina), I. Romanova, N. Dedyulya, E. Nazarova, E. Primakova, A. Symanovich, D. Sadouski, L. Kirkovsky, S. Korotkov, A. Shcherba, S. Krivenko, O. Rummo // 21st Congress of the European society for organ transplantation : abstr., Athens, Greece, 17–20 Sept. 2023. – [Publ.] Transplant International. – 2023. – P. 312.

7–А. Применение мезенхимальных стволовых клеток плацентарного происхождения в комплексной терапии декомпенсированного цирроза печени / Е. Г. Петровская (Е. Г. Юркина), Д. Ю. Ефимов, Е. А. Примакова, А. А. Сыманович, Е. А. Назарова, И. А. Романова, Н. И. Дедюля, Д. Н. Садовский, Е. А. Янушевская, Л. В. Кирковский, С. В. Коротков, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Трансплантация и донорство органов : материалы конгр., тез. докл. VI Рос. Нац. конгр. с междунар. участием, Москва, 25–27 сент. 2023 г. / М-во здравоохранения Рос. Федерации [и др.] ; под ред. С. В. Готье. – [Опубл. в журн.] Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2023. – Т. 25, прил. – С. 152.

8–А. Терапия декомпенсированного цирроза печени мезенхимальными стволовыми клетками плацентарного происхождения: результаты пилотного исследования / Д. Ю. Ефимов, Е. Г. Петровская (Е. Г. Юркина), Е. А. Примакова, А. А. Сыманович, Е. А. Назарова, И. А. Романова, Н. И. Дедюля, Д. Н. Садовский, Л. В. Кирковский, И. П. Штурич, С. В. Коротков, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Хирургия Беларуси – ее состояние и развитие : сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием и XVII Съезда хирургов Респ. Беларусь, Могилев, 12–13 окт. 2023 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Бел. ассоц. хирургов, Бел. гос. мед. ун-т ; под ред. Г. Г. Кондратенко, О. О. Руммо, А. И. Протасевича. – Мн., 2023. – С. 886–887. – 1 CD-ROM.

9–А. Эффективность системного введения мезенхимальных стволовых клеток плацентарного происхождения у пациентов с декомпенсированным циррозом печени / Д. Ю. Ефимов, Е. Г. Юркина, Е. А. Примакова, А. А. Сыманович, Е. А. Назарова, И. А. Романова, Н. И. Дедюля, Д. Н. Садовский, В. В. Сазановец, И. П. Штурич, С. В. Коротков, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Тренды современной трансплантологии : сб. материалов 11-й науч.-практ. конф. с междунар. участием «Московская трансплантология», Москва, 21–22 мая 2024 г. / О-во трансплантологов, НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского ДЗМ, Департамент здравоохранения г. Москвы ; редкол.: М. Ш. Хубутя [и др.]. – М., 2024. – С. 26–29. – (Труды института ; т. 260).

10–А. Cell therapy for decompensated liver cirrhosis: systemic intravenous

placental mesenchymal stem cells infusion and intraportal combined human hepatocytes transplantation / D. Efimov, E. Yurkina, E. Primakova, A. Symanovich, E. Nazarova, S. Krivenko, S. Korotkov, A. Shcherba, O. Rummo // Liver transplantation updates 2024 : progr. & abstr. book, Seoul, Korea, 29–30 Aug. 2024 / The Korean liver transplantation soc. – P. 70. – URL: [https://www.ltupdates.org/download/LT\\_Updates\\_2024programbook\\_low.pdf](https://www.ltupdates.org/download/LT_Updates_2024programbook_low.pdf) date of access: 11.09.2024).

11–А. Intraportal human hepatocytes transplantation combined with placental mesenchymal stem cells and systemic intravenous placental mesenchymal stem cells infusion in decompensated liver cirrhosis / D. Efimov, D. Sadouski, E. Primakova, A. Symanovich, S. Korotkov, E. Yurkina, A. Shcherba, S. Krivenko, O. Rummo // Abstracts from the 30th International congress of the transplantation society, Istanbul, Turkey, 22–25 September 2024. – [Publ.] Transplantation. – 2024. – Vol. 108, № 9S. – P. 173.

12–А. Сравнительная характеристика мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из плацентарно-пуповинного комплекса человека / Е. Г. Петровская (Е. Г. Юркина), Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, Н. И Дедюля, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневич, С. И. Кривенко // Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии : тез. докл. Междунар. науч. конф., Минск, 20–21 мая 2021 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т биофизики и клеточ. инженерии НАН Беларуси ; редкол.: А. Е. Гончаров [и др.]. – Мн., 2021. – С. 6.

13–А. Оценка продукции цитокинов и факторов роста мезенхимальными стволовыми клетками из тканей плацентарно-пуповинного комплекса человека / Е. Г. Петровская (Е. Г. Юркина), Е. А. Назарова, Е. А. Примакова, Н. И Дедюля, Е. А. Янушевская, В. В. Смольникова, И. А. Романова, В. Ю. Гриневич, С. И. Кривенко // Трансплантация и донорство органов : материалы конгр., тез. докл. V Рос. нац. конгр. с междунар. участием, Москва, 27–29 сент. 2021 г. / М-во здравоохранения Рос. Федерации [и др.] ; под ред. С. В. Готье. – [Опубл. в журн.] Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23, прил. – С. 141.

14–А. Systemic intravenous infusion of the chorionic plate mesenchymal stem cells may stabilize the decompensation of liver cirrhosis / D. Efimov, E. Petrovskaya (E. Yurkina), D. Sadouski, E. Nazarova, E. Primakova, A. Symanovich, N. Dedyulya, S. Korotkov, A. Shcherba, S. Krivenko // International society of liver surgeons, Grand Walkerhill Seoul, Seoul, Korea, 18-19 March 2024: abstr. [Publ.] Transplant International. – 2023. – P. 312.

15–А. Клеточная терапия печеночной недостаточности: от системного внутривенного введения мезенхимальных стволовых клеток плацентарного происхождения до интрапортальной трансплантации гепатоцитов человека /

Д. Ю. Ефимов, Е. Г. Юркина, Д. Н. Садовский, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, А. А. Сыманович, Е. В. Гордей, Н. Н. Комяк, Н. И. Дедюля, П. С. Прилуцкий, И. П. Штурич, С. В. Коротков, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Трансплантация и донорство органов : материалы съезда, тез. докл. XII Всерос. съезда трансплантологов с междунар. участием, Москва, 30 сент. – 2 окт. 2024 г. / М-во здравоохранения Рос. Федерации [и др.] ; под ред. С. В. Готье. – [Опубл. в журн.] Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2024. – Т. 26, прил. – С. 171–172.

16–А. Применение гепатоцитов и мезенхимальных стволовых клеток пуповинно-плацентарного комплекса в терапии цирроза трансплантата печени: описание клинического случая / А. А. Сыманович, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, Д. Ю. Ефимов, Е. Г. Юркина, Н. И. Дедюля, Д. Н. Садовский, И. А. Романова, А. Г. Марчук, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Материалы VI Национального конгресса по регенеративной медицине, Санкт-Петербург, 13–15 ноября 2024 года = Proceedings of the VI National congress on regenerative medicine, Saint Petersburg, 13–15 November 2024. – [Опубл. в журн.] Морфология. – 2024. – С. 965–966.

17–А. Использование клеточной терапии мезенхимальными стволовыми клетками, полученными из плацентарно-пуповинного комплекса, у пациентов с декомпенсированным циррозом печени / Е. Г. Юркина, Д. Ю. Ефимов, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, А. А. Сыманович, И. А. Романова, В. В. Смольникова, Е. А. Янушевская, Н. И. Дедюля, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба // Материалы VI Национального конгресса по регенеративной медицине, Санкт-Петербург, 13–15 ноября 2024 года = Proceedings of the VI National congress on regenerative medicine, Saint Petersburg, 13–15 November 2024. – [Опубл. в журн.] Морфология. – 2024. – С. 1135–1136.

18–А. Clinical application of biomedical cellular products based on human mesenchymal stem cells for the prevention and treatment of liver failure / D. Efimov, E. Yurkina, E. Primakova, E. Nazarova, N. Dedyulya, D. Sadovskiy, S. Krivenko, S. Korotkov, A. Shcherba, O. Rummo // Liver transplantation updates 2025 : progr. & abstr. book, Incheon, Korea, 5–6 Sept. 2025 / The Korean liver transplantation soc. – P. 103–104. – URL: <https://drive.google.com/file/d/1yTyY2WibrayMBPXOU1Sbrf3DgHWtu8ro/view> (date of access: 09.10.2025).

19–А. Клиническое применение биомедицинских клеточных продуктов на основе клеток мезенхимальных человека в профилактике и лечении печеночной недостаточности / Д. Ю. Ефимов, Е. Г. Юркина, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, Н. И. Дедюля, В. В. Сазановец, М. А. Фролова, Д. Н. Садовский, Л. В. Кирковский, И. П. Штурич, С. В. Коротков, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Трансплантация и донорство органов : материалы конгр., тез. докл. VII Рос. нац. конгр., Москва, 15–17 сент. 2025 г. / М-во здравоохранения

Рос. Федерации [и др.] ; под ред. С. В. Готье. – [Опубл. в журн.] Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2025. – Т. 27, прил. – С. 156–157.

20–А. Коррекция печеночной недостаточности у пациентов с декомпенсированным циррозом печени, основанная на применении мезенхимальных клеток человека, полученных из хоримальной пластинки / Е. Г. Юркина, Д. Ю. Ефимов, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, Н. И. Дедюля, И. А. Романова, Е. А. Янушевская, В. В. Сазановец, М. А. Фролова, Д. Н. Садовский, Л. В. Кирковский, И. П. Штурич, С. В. Коротков, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Трансплантация и донорство органов : материалы конгр., тез. докл. VII Рос. нац. конгр., Москва, 15–17 сент. 2025 г. / М-во здравоохранения Рос. Федерации [и др.] ; под ред. С. В. Готье. – [Опубл. в журн.] Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2025. – Т. 27, прил. – С. 159–160.

21–А. Клиническое применение терапии на основе мезенхимальных стволовых клеток при печеночной недостаточности: стратегии профилактики и лечения / Д. Ю. Ефимов, Е. Г. Юркина, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, И. А. Романова, Д. Н. Садовский, В. В. Сазановец, О. С. Коротков, Н. И. Дедюля, И. П. Штурич, С. В. Коротков, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии : материалы XXXII Междунар. конгр. ассоц. гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ, посвящ. 80-летию Победы в Велик. Отечеств. войне, Санкт-Петербург, 24–26 сент. 2025 г. / М-во здравоохранения Рос. Федерации [и др.] ; под ред. С. Ф. Багненко [и др.]. – СПб., 2025. – С. 18. – 1 CD-ROM.

22–А. Clinical implementation of advanced biotechnologies for liver failure management in Belarus: stem cell therapies and tissue engineering approaches / D. Efimov, E. Primakova, E. Yurkina, S. Krivenko, E. Nazarova, D. Sadovskiy, S. Korotkov, A. Shcherba, O. Rummo // 18th CTRMS international Congress : abstr. from the 18th Congr. of the Cell Transplant and Regen. Med. Soc, Tokyo, Japan, 22–25 Oct. 2025 / Cell Transplant and Regen. Med. Soc. – [Publ.] Transplantation. – 2025. – Vol. 109, № 10S. – P. S31.

### **Инструкция по применению**

23–А. Метод лечения печеночной недостаточности с применением гепатоцитов человека и клеток мезенхимальных из плацентарно-пуповинного комплекса человека : инструкция по применению № 053-0624 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 13.12.2024 / Государственное учреждение «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» ; Д. Ю. Ефимов, Е. Г. Юркина, Д. Н. Садовский, Н. И. Дедюля, Е. А. Назарова, Е. А. Примакова, И. А. Романова, О. Н. Козак, П. С. Прилуцкий, А. А. Сыманович, С. В. Коротков, А. М. Дзядзько, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо. – Мн., 2024. – 6 с.

## РЕЗЮМЕ

Юркина Екатерина Геннадьевна

### **Биологические характеристики мезенхимальных стволовых клеток плацентарно-пуповинного комплекса человека и создание на их основе биомедицинского клеточного продукта для коррекции печеночной недостаточности**

**Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки (МСК), плацентарно-пуповинный комплекс (ППК), жировая ткань (ЖТ), костный мозг (КМ), биомедицинский клеточный продукт (БМКП), печеночная недостаточность (ПН).

**Цель исследования:** изучить биологические характеристики МСК из различных тканевых источников, провести их сравнительный анализ и определить стратегию выбора МСК для создания на их основе БМКП с заданными целевыми свойствами для коррекции печеночной недостаточности.

**Методы исследования:** культуральные, проточная цитометрия, иммуноферментный анализ, статистические.

**Полученные результаты и их новизна.** Разработана модификация метода получения МСК из децидуальной ткани, хориальной пластинки и ворсинок хориона, не уступающая по эффективности выделения клеток наиболее распространенной методике, но обеспечивающая уменьшение повреждающего ферментативного воздействия на клетки мононуклеарной фракции.

Предложен оптимальный состав культуральной среды для получения БМКП на основе МСК, включающий среду DMEM с добавлением лизированного концентрата тромбоцитов, что повышает клеточный выход не менее чем в 3-4 раза по сравнению с общепринятыми составами сред для культивирования.

На основании сравнительного анализа показателей пролиферативного и дифференцировочного потенциалов, молекулярного профиля и продукции растворимых факторов МСК человека из различных тканевых источников впервые научно обосновано преимущество МСК из хориальной пластинки для создания на их основе БМКП для коррекции печеночной недостаточности. Применение таких БМКП обеспечивает положительную динамику лабораторных показателей (общий белок, билирубин, МНО) и показателя MELD у пациентов с печеночной недостаточностью.

**Рекомендации по использованию.** Для терапии пациентов с печеночной недостаточностью рекомендуется применять БМКП на основе МСК из хориальной пластинки ППК.

**Область применения:** клиническая и экспериментальная трансплантология.

## РЭЗІЮМЭ

**Юркіна Кацярына Генадзьеўна**

**Біялагічныя характарыстыкі мезенхімальных ствалавых клетак плацэнтарна-пупавіннага комплексу чалавека і стварэнне на іх аснове біямедыцынскага клеткавага прадукта для карэкцыі пячоначнай недастатковасці**

**Ключавыя словы:** мезенхімальныя ствалавыя клеткі (МСК), плацэнтарна-пупавінны комплекс (ППК), тлушчавая тканіна (ЖТ), касцяны мозг (КМ), біямедыцынскі клеткавы прадукт (БМКП), пячоначная недастатковасць.

**Мэта даследавання:** вывучыць біялагічныя характарыстыкі МСК з розных тканкавых крыніц, правесці іх параўнальны аналіз і вызначыць стратэгію выбару МСК для стварэння на іх аснове БМКП з зададзенымі мэтавымі ўласцівасцямі для карэкцыі пячоначнай недастатковасці.

**Метады даследавання:** культуральныя, праточная цытаметрыя, імунаферментны аналіз, статыстычныя.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна.** Распрацавана мадыфікацыя метаду атрымання МСК з дэцыдуальнай тканіны, харыяльнай пласцінкі і варсінак харыёна, якая не саступае па эфектыўнасці выдзялення клетак найбольш распаўсюджанай метадыцы, але забяспечвае памяншэнне пашкоджальнага ферментатыўнага ўздзеяння на клеткі монануклеярнай фракцыі.

Прапанаваны аптымальны склад культуральнага асяроддзя для атрымання БМКП на аснове МСК, які ўключае асяроддзе DMEM з даданнем лізаванага канцэнтрату трамбацытаў, што павышае клеткавы выхад не менш чым у 3 разы ў параўнанні з агульнапрынятымі складамі асяроддзяў для культывавання.

На падставе параўнальнага аналізу паказчыкаў праліфератыўнага і дыферэнцыявальнага патэнцыялаў, малекулярнага профілю і прадукцыі растваральных фактараў МСК чалавека з розных тканкавых крыніц, упершыню навукова абгрунтавана перавага МСК з харыяльнай пласцінкі для стварэння на іх аснове БМКП для карэкцыі пячоначнай недастатковасці. Ужыванне такіх БМКП забяспечвае станоўчую дынаміку лабараторных паказчыкаў (агульны бялок, білірубін, МНА) і паказчыка MELD ў пацыентаў з пячоначнай недастатковасцю.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні.** Для тэрапіі пацыентаў з пячоначнай недастатковасцю рэкамендуецца ўжываць БМКП на аснове МСК з харыяльнай пласцінкі ППК.

**Вобласць ужывання:** клінічная і эксперыментальная транспланталогія.

## SUMMARY

**Yurkina Ekaterina Gennadievna**

### **Biological characteristics of human placental-umbilical cord mesenchymal stem cells and the development of a biomedical cell product for the treatment of liver failure**

**Key words:** mesenchymal stem cells (MSCs), placental-umbilical cord complex (PUC), adipose tissue (AT), bone marrow (BM), biomedical cell product (BMCP), liver failure.

**Purpose of the study:** to study the biological characteristics of MSCs from various tissue sources, conduct their comparative analysis and determine a strategy for selecting MSCs to create, on their basis, BMCPs with specified target properties for the correction of liver failure.

**Research methods:** cultural, flow cytometry, enzyme-linked immunosorbent assay, statistical.

**Obtained results and their novelty.** A modified method for obtaining MSCs from decidual tissue, chorionic plate, and chorionic villi has been developed. This method is not inferior in cell isolation efficiency to the most common method, but ensures a reduction in the damaging enzymatic effect on the cells of the mononuclear fraction.

An optimal composition of the culture medium for obtaining BMCP based on MSCs has been proposed, including DMEM medium with the addition of lysed platelet concentrate, which increases the cell yield by at least 3-4 times compared to generally accepted compositions of culture media. It has been established that the use of BMCP based on chorionic microstem cell (CMC) provides positive dynamics of laboratory parameters (total protein, bilirubin, INR) and the MELD index in patients with liver failure.

Based on a comparative analysis of the proliferative and differentiation potential, molecular profile, and soluble factor production of human MSCs from various tissue sources, the advantage of using chorionic plate-derived MSCs for the development of BMCP-based liver transplants for the correction of liver failure has been scientifically substantiated for the first time. The use of these BMCPs results in positive changes in laboratory parameters (total protein, bilirubin, INR) and the MELD score in patients with liver failure.

**Recommendations for use.** For the treatment of patients with liver failure, it is recommended to use BMCP based on chorionic plate MSCs.

**Application field:** Clinical and experimental transplantation.