

генной ТКМ донорскими Т-клетками, которые вводятся одновременно с кроветворными клетками при трансплантации, а затем вновь образуются из гематопоэтических клеток. Из всех наблюдаемых нами признаков такой атаки выделяются массы недифференцированных округлых GFP⁺-клеток с внутренней поверхности кожи и истончение стенки прямой кишки, заселенной относительно небольшим количеством GFP⁺-фибробластов. Все остальные повреждения органов после аллогенной ТКМ – отторжение кожи, в которой находится множество клеток донорского происхождения (в основном GFP⁺-фибробластов), деформация ворсин в слизистой оболочке прямой кишки и частичная деформация и потеря ими GFP⁺-клеток, массово их заселивших, усиленное размножение соединительнотканых GFP⁺-клеток в печени и кишке, наличие полуразрушенных клеток Ито на поздних сроках, опустошение КМ реципиента – указывают на то, что атака на них в данном случае идет со стороны иммунной системы реципиента, а не донорских Т-лимфоцитов.

Поэтому мы предполагаем, что после аллогенной ТКМ, кроме РТПХ, имеет место и РХПТ. Это предположение подкрепляется данными клинической картины после аллогенной ТКМ из медицинской практики – повреждением кожи, эпителия желчных протоков, но не гепатоцитов, и слизистой оболочки пищеварительного тракта, избыточной продукцией коллагена – и согласуется с работами о наличии реципрокных иммунных реакций после аллогенной ТКМ (Vossen, 1998; Dzierzak-Mietla et al., 2012). Явное проявление иммунных реакций (21–35 сут после ТКМ) напрямую совпадает со временем массового заселения исследованных органов клетками донорского происхождения и их дифференцировки, т.е. развитие химеризма определяет развитие поражения органов.

Это наблюдение подтверждается тем фактом, что по результатам другой нашей работы потеря химеризма крови через 2–7 нед. после аллогенной (от мышей линии C57Bl/6) и полуаллогенной трансплантации (от гибридов ♀C57Bl/6 GFP⁺ × ♂СВА) мышам СВА приводила к увеличению выживаемости реципиентов (до 9 мес. после облучения) по сравнению с теми животными, у которых химеризм наблюдали до конца жизни. При этом присмертное исследование животных с потерей химеризма крови показало полное или частичное отсутствие химеризма внутренних органов без видимых признаков РТПХ (Богданенко и др., 2021).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа финансирована за счет средств бюджета Института общей патологии и патофизиологии и Института биофизики клетки РАН. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с Руководством Национального института здравоохранения по уходу и использованию лабораторных животных (<http://oacu.od.nih.gov/regs/index.htm>) и были одобрены этическим комитетом Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии (протокол № 4 от 12.09.2022 г.) в соответствии с инструкцией Американского физиологического общества (1995).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е.В.Б.: идея, помощь при проведении инъекций и облучении, забой животных, анализ данных для таблиц, подбор фотографий и данных из литературы, трактовка результатов, написание текста.

Л.А.С.: извлечение КМ из бедренных костей, приготовление суспензии клеток, введение КМ в хвостовую вену, взятие образцов органов, работа на флуоресцентном микроскопе, ведение протоколов, подготовка фотографий для публикации.

А.В.К.: подбор дозы облучения, обсуждение результатов, подбор литературы, утверждение окончательной версии статьи.

Н.А.К.: анализ микрофотографий, написание резюме, утверждение окончательной версии статьи.

И.А.Л.: подготовка животных для эксперимента, ведение мышей после трансплантации, обсуждение результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бландова З.К., Душкин В.А., Малашенко А.М., Шмидт Е.Ф. 1983. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований. М.: Наука. (Blandova Z.K., Dushkin V.A., Malashenko A.M., Shmidt Ye.F. 1983. Linii laboratornykh zhivotnykh dlya mediko-biologicheskikh issledovaniy. M.: Nauka.)

- Богданенко Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова А.В., Карнаухова Н.А., Лизунова И.А. 2021. Выживаемость и устойчивость химеризма крови у мышей линии СВА после трансплантации костного мозга от доноров различного происхождения, несущих ген EGFP. Патогенез. Т. 19. № 4. С. 30. (Bogdanenko E.V., Sergievich L.A., Karnaukhov A.V., Karnaukhova N.A., Lizunova I.A. 2021. Survival and stability of blood chimerism in CBA mice after bone marrow transplantation from donors of various origin carrying the EGFP gene. Patogenez. V. 19. No. 4. P. 30.)
- Богданенко Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова А.В., Карнаухова Н.А., Лизунова И.А. 2022. Исследование распределения донорских клеток при заживлении резаных ран после аллогенной и сингенной безоблучательной трансплантации цельного костного мозга с использованием мышей, несущих ген EGFP. Патогенез Т. 20. № 4. С. 69. (Bogdanenko E.V., Sergievich L.A., Karnaukhov A.V., Karnaukhova N.A., Lizunova I.A. 2022. The distribution of donor cells during healing of incised wounds after allogeneic and syngeneic transplantation of whole bone marrow without irradiation, using mice carrying the EGFP gene. Patogenez. V. 20. № 4. P. 69.)
- Богданенко Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова А.В., Карнаухова Н.А., Лизунова И.А., Карнаухова В.Н. 2020. Изучение регенеративного потенциала стволовых клеток цельного костного мозга для лечения механических травм кожи в модельных экспериментах на мышах. Патол. физиол. и экспер. терапия. Т. 64. № 1. С. 31. (Bogdanenko E.V., Sergievich L.A., Karnaukhov A.V., Karnaukhova N.A., Lizunova I.A., Karnaukhov V.N. 2020. The regenerative potential of stem cells from the whole bone marrow for the treatment of skin mechanical trauma in a murine model. Patol. fiziol. i eksper. terapiya (Pathol. Physiol. Exper. Ther.). V. 64. No. 1. P. 31.)
- Богданенко Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова А.В., Карнаухова Н.А., Лизунова И.А. 2022. Исследование распределения донорских клеток при заживлении резаных ран после аллогенной и сингенной безоблучательной трансплантации цельного костного мозга с использованием мышей, несущих ген EGFP. Патогенез Т. 20. № 4. С. 69. (Bogdanenko E.V., Sergievich L.A., Karnaukhov A.V., Karnaukhova N.A., Lizunova I.A. 2022. The distribution of donor cells during healing of incised wounds after allogeneic and syngeneic transplantation of whole bone marrow without irradiation, using mice carrying the EGFP gene. Patogenez. V. 20. № 4. P. 69.)
- Миллер Т.В., Повещенко А.Ф., Лыков А.П., Повещенко О.В., Бондаренко Н.А., Петровская И.Ф., Завьялов Е.Л., Деметьева Е.В., Захарова И.С., Грицык О.Б., Шурлыгина А.В., Коненков В.И. 2016. Сравнительный анализ миграционной активности популяций клеток костного мозга в лимфоидные и нелимфоидные органы в норме и на модели сахарного диабета. Современные проблемы науки и образования. № 2. С. 137. (Miller T.V., Poveshchenko A.F., Lykov A.P., Poveshchenko O.V., Bondarenko N.A., Petrovskaya I.F., Zavjalov E.L., Demytyeva E.V., Zakharova I.S., Gritsyk O.B., Shurlygina A.V., Konenkov V.I. 2016. Comparative analysis of the migratory activity of populations of bone marrow cells in lymphoid and non-lymphoid organs in norm and in experimental models of diabetes. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. No. 2. P. 137.)
- Сергиевич Л.А., Богданенко Е.В., Карнаухова А.В., Карнаухова Н.А., Лизунова И.А. 2021. Флуоресцентная визуализация динамики распределения GFP⁺-клеток донора в органах мышей после трансплантации нативного или криоконсервированного костного мозга. Цитология. Т. 63. № 6. С. 568. (Sergievich L.A., Bogdanenko E.V., Karnaukhov A.V., Karnaukhova N.A., Lizunova I.A. Fluorescent visualization of the dynamics of donor GFP⁺-cells distribution in mouse organs after native or cryopreserved bone marrow transplantation. Tsitologiya. V. 63. No. 6. P. 568.)
- Цуцаева А.А., Гольцев А.Н., Попов Н.Н., Останкова Л.В., Лобасенко Н.П., Микулинский Ю.Е. 1988. Кривоиммунология. Киев: Наукова думка. (Tsutsaeva A.A., Goltsev A.N., Popov N.N., Ostankova L.V., Lobasenko N.P., Mikulinsk Yu.E. 1988. Krioiimmunologiya. Kiev: Naukova dumka.)
- Blazar B.R., Murphy W.J., Abedi M. 2012. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy. Nat. Rev. Immunol. V. 12. P. 443.
- Brandon J.A., Perez J., Jennings C.D., Cohen D.A., Sindhava V.J., Bondada S., Kaplan A.M., Bryson J.S. 2010. Association between chronic liver and colon inflammation during the development of murine syngeneic graft-versus-host disease. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. V. 299. № 3. P. G602.
- Brittan M., Chance V., Elia G., Poulson R., Alison M.R., MacDonald T., Wright N.A. 2005. A regenerative role for bone marrow following experimental colitis: contribution to neovasculogenesis and myofibroblasts. Gastroenterol. V. 128. P. 1984.
- Brittan M., Hunt T., Jeffery R., Poulson R., Forbes S.J., Hodivala-Dilke K., Goldman J., Alison M.R., Wright N.A. 2002. Bone marrow derivation of pericyptal myofibroblasts in the mouse and human small intestine and colon. Gut. V. 50. P. 752. <https://doi.org/10.1136/gut.50.6.752>
- Brubaker D.B. 1993. Immunopathogenic mechanisms of posttransfusion graft-vs-host disease. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. V. 202. P. 122.
- Caplan A.I. 2013. Adult mesenchymal stem cells and the NO pathways. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 110. P. 2695. <https://doi.org/10.1073/pnas.1221406110>
- Chao N.J., Blume K.G. 1989. Bone marrow transplantation. Part I – Allogeneic. West J. Med. V. 151. P. 638.
- Chalfie M. 1995. Green fluorescent protein. Photochem. Photobiol. V. 62. P. 651.
- Ch'ang H.-J., Lin L.-M., Pu-Yuan C., Chi-Wen L., Ya-Hui C., Chou C.-K., Chen H.H. 2012. Bone marrow transplantation enhances trafficking of host-derived myelomonocytic cells that rescue intestinal mucosa after whole body radiation. Radiother. Oncol. V. 104. P. 401.
- Chen X., McClurg A., Zhou G.Q., McCaigue M., Armstrong M.A., Li G. 2007. Chondrogenic differentiation alters the immunosuppressive property of bone marrow-derived mesenchymal stem cells, and the effect is partially

- due to the upregulated expression of B7 molecules. *Stem Cells*. V. 25. P. 364.
- Gorin N.-C., Labopin M., Boiron J.-M., Theorin N., Littlewood T., Slavin S., Greinix H., Cahn J.Y., Alessandrino E.P., Rambaldi A., Nagler A., Polge E., Rocha V. 2006. Results of genodentical hemopoietic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning for acute myelocytic leukemia: higher doses of stem cells infused benefit patients receiving transplants in second remission or beyond – the acute leukemia working party of the European cooperative group for blood and marrow transplantation. *Clin. Oncol.* V. 24. P. 3959.
- Divito S.J., Aasebo A.T., Matos T.R., Hsieh P.-C., Collin M., Elco C.P., O'Malley T., Bækkevold E.S., Reims H., Gedde-Dahl T., Hagerstrom M., Hilaire J., Lian J.W., Milford E.L., Pinkus G.S. et al. 2020. Peripheral host T cells survive hematopoietic stem cell transplantation and promote graft-versus-host disease. *J. Clin. Invest.* V. 130. P. 4624.
- Dzierzak-Mietla M., Markiewicz M., Siekiera U., Mizia S., Koclega A., Zielinska P., Sobczyk-Kruszelnicka M., Kyrz-Krzemien S. 2012. Antigens' disparities on outcomes of hematopoietic stem cell. Transplantation from HLA-matched sibling donors. *Bone Marrow Res.* <https://doi.org/10.1155/2012/257086>
- Dubnyak D.S., Kuzmina L.A., Drovok M.Y., Petinati N.A., Drize N.J., Vasilyeva V.V., Koroleva O.M., Mikhailtsova E.D., Popova N.N., Parovichnikova E.N., Savchenko V.G. 2016. Treatment of refractory intestinal acute GvHD using multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC). *Cell. Ther. Transplant.* V. 5. P. 34. <https://doi.org/10.18620/ctt-1866-8836-2016-5-3-34-36>
- Egawa G., Kabashima K. 2018. A study to detect bone marrow-derived keratinocyte: negative evidence of direct differentiation from bone-marrow cells to keratinocytes in normal and wounded skin using keratin 5-specific reporter mice. *J. Invest. Dermatol.* V. 138. P. 1228. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.12.032>
- Eichwald E.J., Lustgraaf E.C., Weissman I., Strainer M. 1958. Attempts to demonstrate sex-linked histocompatibility genes. *Transplant. Bull.* V. 5. P. 387. <https://doi.org/10.1097/00006534-195810000-00036>
- Ferrara J.L., Levine J.E., Reddy P., Holler E. 2009. Graft-versus-host disease. *Lancet.* V. 373. P. 1550.
- Filip S., Mokry J., Vavrová J., Sinkorová Z., Mičuda S., Sponer P., Filipová A., Hřebíková H., Dayanithin G. 2014. The peripheral chimerism of bone marrow-derived stem cells after transplantation: regeneration of gastrointestinal tissues in lethally irradiated mice. *J. Cell Mol. Med.* V. 18. № 5. P. 832. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12227>
- Francois S., Mouiseddine M., Allenet-Lepage B., Voswinkel J., Douay L., Benderitter M., Chapel A. 2013. Human mesenchymal stem cells provide protection against radiation-induced liver injury by antioxidative process, vasculature protection, hepatocyte differentiation, and trophic effects. *BioMed. Res. Int.* <https://doi.org/10.1155/2013/151679>
- Fujita Y., Abe R., Inokuma D., Sasaki M., Hoshina D., Natsuga K., Nishie W., McMillan J.R., Nakamura H., Shimizu T., Akiyama M., Sawamura D., Shimizu H. 2010. Bone marrow transplantation restores epidermal basement membrane protein expression and rescues epidermolysis bullosa model mice. *PNAS.* V. 107. P. 14347. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000044107>
- Garvy B.A., Elia J.M., Hamilton B.L., Riley R.L. 1993. Suppression of B-cell development as a result of selective expansion of donor T cells during the minor H antigen graft-versus-host reaction. *Blood.* V. 82. P. 2758.
- Harris R.G., Herzog E.L., Bruscia E.M., Grove J.E., Van Arnam J.S., Krause D.S. 2004. Lack of a fusion requirement for development of bone marrow-derived epithelia. *Science.* V. 305. P. 90.
- Hünefeld C., Mezger M., Müller-Hermelink E., Schaller M., Müller I., Amagai M., Handgretinger R., Röcken M.J. 2018. Marrow-derived stem cells migrate into intraepidermal skin defects of a desmoglein-3 knockout mouse model but preserve their mesodermal differentiation. *J. Invest. Dermatol.* V. 138. P. 1157. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.10.035>
- Iredale J.P. 2001. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin. Liver Dis.* V. 3. P. 427. <https://doi.org/10.1055/s-2001-17557>
- Kanazawa Y., Verma I. 2003. Little evidence of bone marrow-derived hepatocytes in the replacement of injured liver. *PNAS.* V. 100. Suppl. 1. P. 11850.
- Körbling M., Katz R.L., Khanna A., Ruifrok A.C., Rondon G., Albitar M., Champlin R.E., Estrov Z. 2002. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N. Engl. J. Med.* V. 346. P. 738. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa3461002>
- Krause D.S. 2002. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Gene Ther.* V. 9. P. 754
- Lin Y., Hu X., Cheng H., Pang Y., Wang L., Zou L., Xu S., Zhuang X., Jiang C., Yuan W., Cheng T., Wang J. 2014. Graft-versus-host disease causes broad suppression of hematopoietic primitive cells and blocks megakaryocyte differentiation in a murine model. *Biol. Blood Marrow Transplant.* V. 20. P. 1290.
- Lin Z., Tang X., Wan J., Zhang X., Liu C., Liu T. 2021. Functions and mechanisms of circular RNAs in regulating stem cell differentiation. *RNA Biol.* V. 18. P. 2136.
- Liu H., Kemeny D.M., Heng B.C., Ouyang H.W., Melen-dez A.J., Cao T. 2006. The immunogenicity and immunomodulatory function of osteogenic cells differentiated from mesenchymal stem cells. *J. Immunol.* V. 176. P. 2864.
- Lohan P., Coleman C.M., Murphy J.M., Griffin M.D., Ritter T., Ryan A.E. 2014. Changes in immunological profile of allogeneic mesenchymal stem cells after differentiation: should we be concerned? *Stem Cell Res. Ther.* V. 5. P. 99.
- Lohan P., Treacy O., Griffin M.D., Ritter T., Ryan A.E. 2017. Anti-donor immune responses elicited by allogeneic mesenchymal stem cells and their extracellular vesicles: are we still learning? *Front. Immunol.* V. 8. P. 1626.
- Martínez-Jaramillo G., Gómez-Morales E., Sánchez-Valle E., Mayani H. 2001. Severe hematopoietic alterations in vitro, in bone marrow transplant recipients who develop graft-

- versus-host disease. *J. Hematother. Stem Cell Res.* V. 10. P. 347.
- Mohammadi N., Mardomi A., Hassannia H., Enderami S.E., Ranjbaran H., Rafiei A., Abediankenari S. 2020. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells acquire immunogenicity concurrent with differentiation to insulin-producing cells. *Immunobiol.* V. 225. P. 157994. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2020.151994>
- Moreno D.F., Cid J. 2019. Graft-versus-host disease. *Med. Clin. (Barc).* V. 152. P. 22. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.07.012>
- Müskens K.F., Lindemans C.A., Belderbos M.E. 2021. Hematopoietic dysfunction during graft-versus-host disease: a self-destructive process? *Cells.* V. 10. P. 2051.
- Okabe M., Ikawa M., Kominami K., Nakanishi T., Nishimune Y. 1997. 'Green mice' as a source of ubiquitous green cells. *FEBS Lett.* V. 407. P. 313.
- Okamoto R., Yajima T., Yamazaki M., Kanai T., Mukai M., Okamoto S., Ikeda Y., Hibi T., Inazawa J., Watanabe M. 2002. Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat. Med.* V. 8. P. 1011. <https://doi.org/10.1038/nm755>
- Popli R., Sahaf B., Nakasone H., Lee J.Y.Y., Miklos D.B. 2014. Clinical impact of H-Y alloimmunity. *Immunol. Res.* V. 58. P. 249. <https://doi.org/10.1007/s12026-014-8514-3>
- Rea S., Giles N.L., Webb S., Adcroft K.F., Evill L.M., Strickland D.H., Wood F.M., Fear M.W. 2009. Bone marrow-derived cells in the healing burn wound—More than just inflammation. *Burns.* V. 35. P. 356. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2008.07.011>
- Rodriguez-Menocal L., Shareef S., Salgado M., Shabbir A., Van Badiavas E. 2015. Role of whole bone marrow, whole bone marrow cultured cells, and mesenchymal stem cells in chronic wound healing. *Stem Cell Res. Ther.* V. 6. P. 24. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0001-9>
- Shono Y., Ueha S., Wang Y., Abe J., Kurachi M., Matsuno Y., Sugiyama T., Nagasawa T., Imamura M., Matsushima K. 2010. Bone marrow graft-versus-host disease: Early destruction of hematopoietic niche after MHC-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* V. 115. P. 5401.
- Suratt B.T., Cool C.D., Serls A.E., Chen L., Varella-Garcia M., Shpall E.J., Brown K.K., Worthen G.S. 2003. Human pulmonary chimerism after hematopoietic stem cell transplantation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* V. 168. P. 318. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200301-145OC>
- Tee B.C., Sun Z. 2020. Xenogeneic mesenchymal stem cell transplantation for mandibular defect regeneration. *Xenotransplantation.* V. 27. P. e12625. <https://doi.org/10.1111/xen.12625>
- Tolar J., Wagner J.E. 2013. Allogeneic blood and bone marrow cells for the treatment of severe epidermolysis bullosa: repair of the extracellular matrix. *Lancet.* V. 382. P. 1214. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61897-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61897-8)
- Tran S.D., Pillemer S.R., Dutra A., Barrett A.J., Brownstein M.J., Key S., Pak E., Leakan R.A., Kingman A., Yamada K.M., Baum B.J., Mezey E. 2003. Differentiation of human bone marrow-derived cells into buccal epithelial cells *in vivo*: a molecular analytical study. *Lancet.* V. 361. P. 1084. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12894-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12894-2)
- Van der Torren C.R., van Hensbergen Y., Luther S., Aghai Z., Stachová Rychnavská Z., Slot M., Scherjon S., Kröger N., Ganser A., Weissinger E.M., Goulmy E., Hambach L. 2015. Possible role of minor H antigens in the persistence of donor chimerism after stem cell transplantation; relevance for sustained leukemia remission. *PLoS One.* V. 10. P. e0119595. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119595>
- Van Dijken P.J., Wimperis J., Crawford J.M., Ferrara J.L.M. 1991. Effect of graft-versus-host disease on hematopoiesis after bone marrow transplantation in mice. *Blood.* V. 78. P. 2773.
- Vossen J. 1998. Allogeneic bone marrow transplantation: relation between chimaerism and immunity. *Verh. K. Acad. Geneesk. Belg.* V. 60. P. 111. Discussion 143.
- Waterhouse M., Pennisi S., Pfeifer D., Deuter M., von Bubnoff N., Scherer F., Strüssmann T., Wehr C., Duyster J., Bertz H., Finke J., Duque-Afonso J. 2021. Colon and liver tissue damage detection using methylated SESN3 and PTK2B genes in circulating cell-free DNA in patients with acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* V. 56. P. 327.