

DOI: 10.15825/1995-1191-2025-4-110-124

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ФИБРОЗИРУЮЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ: РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ

Н.А. Онищенко¹, М.Ю. Шагидулин^{1, 2}, А.А. Ванюкова¹, А.В. Кузьмина², А.О. Никольская¹, Е.А. Волкова¹, А.И. Костышева², И.А. Лычагин², К.А. Казанцева², М.Р. Ибрагимова², А.М. Григорьев¹, А.С. Пономарева¹, Ю.Б. Басок¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Цель: провести сравнительный анализ биорегуляторной роли мезенхимальных стромальных клеток (МСК) печени в норме, при остром и хроническом повреждении печени с развитием деструктивных фиброзирующих процессов, а также при коррекции структурных нарушений в печени путем имплантации в организм экзогенных МСК из здоровых тканей. Анализ показал, что МСК в печени поддерживают ее структурный гомеостаз, взаимодействуя с тканевыми миофибробластами и мигрирующими клетками иммунной системы. При остром повреждении печени, не истощающем резервы тканевой адаптации, печеночные (резидентные) МСК регуляторно поддерживают тканевой гомеостаз. При хроническом повреждении печени, истощающем резервы тканевой адаптации, наступает активация иммунных клеток и печеночных МСК, которые индуцируют воспаление печени и переход МСК в миофибробласти. Миофибробласты, становясь активированными фибробластами, начинают продуцировать избыточные количества внеклеточного матрикса и участвовать в активации процессов фиброзирования печени. Экзогенные апоптотические МСК из здоровых ауто- или аллогенных тканей при введении в организм при хроническом повреждении печени способны восполнить дефицит регуляторных факторов, а также восстановить регуляцию метаболизма и структурного гомеостаза в печени за счет выделяемых ими паракринных и трофических факторов. Экзогенные МСК позволяют надежно восстановить метаболизм и структурный гомеостаз в печени, если перед использованием дополнительно усилить их регуляторную активность и если не применять их у реципиентов с необратимым повреждением печени.

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки, хроническое повреждение печени, фиброз печени, регенеративная медицина, клеточные терапия, клеточно-инженерные конструкции.

Для корреспонденции: Шагидулин Мурат Юнусович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 196-87-90. E-mail: dr.shagidulin@mail.ru

Corresponding author: Murat Shagidulin. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (499) 196-87-90. E-mail: dr.shagidulin@mail.ru

PATHOGENIC AND THERAPEUTIC ROLES OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN LIVER FIBROSIS

N.A. Onishchenko¹, M.Yu. Shagidulin^{1, 2}, A.A. Vaniukova¹, A.V. Kuzmina², A.O. Nikolskaya¹, E.A. Volkova¹, A.I. Kostysheva², I.A. Lychagin², K.A. Kazantseva², M.R. Ibragimova², A.M. Grigoriev¹, A.S. Ponomareva¹, Yu.B. Basok¹

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

The aim of this study was to conduct a comparative analysis of the bioregulatory role of mesenchymal stem cells (MSCs) in the liver under physiological conditions, in acute and chronic injury with fibrotic remodeling, and during therapeutic correction by implanting exogenous MSCs from healthy tissues into the body. The analysis showed that hepatic MSCs maintain structural homeostasis by interacting with tissue myofibroblasts and migrating immune cells. In acute liver injury that does not deplete adaptive reserves, hepatic (resident) MSCs regulate tissue homeostasis. Chronic injury that depletes adaptive reserves activates both immune cells and hepatic MSCs, leading to liver inflammation and the transdifferentiation of MSCs into myofibroblasts. These activated fibroblasts overproduce extracellular matrix components, thereby driving liver fibrosis progression. Exogenous apoptotic MSCs from healthy auto- or allogeneic tissues, when administered in cases of chronic liver injury, can compensate for deficient regulatory factors and restore metabolic regulation and structural homeostasis through their paracrine and trophic activity. Their therapeutic potential is maximized when their regulatory properties are enhanced prior to administration and when applied in recipients without irreversible liver injury.

Keywords: mesenchymal stem cells, chronic liver injury, liver fibrosis, regenerative medicine, cell therapy, cell-engineered constructs.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие хронической печеночной недостаточности (ХПН) и формирование фиброза/цирроза печени является следствием глубокого нарушения процессов восстановительной регенерации, которое создает условия для хронически поддерживаемого воспаления и прогрессирования деструктивных процессов в печени. На современном этапе терапевтических возможностей медицины решение проблемы необратимого повреждения печени у больных ХПН достигается только путем выполнения трансплантации донорской печени [1, 2]. Между тем неуклонно нарастающий дефицит донорских органов и продолжающееся увеличение численности пациентов, нуждающихся в трансплантации печени, ограничивает доступность применения этого метода у пациентов с конечной стадией ХПН. В сложившихся обстоятельствах, а также в связи с низкой эффективностью предлагаемых антифиброзных препаратов возникает необходимость продолжения поиска более доступных, физиологичных и более эффективных способов лечения ХПН и фиброза печени, основанных на индукции собственных регенерационных резервов печени пациента. Использование мезенхимальных стromальных клеток (МСК), выделенных из аутологичных или аллогенных тканей человека, стало новой многообещающей терапевтической стратегией.

К настоящему времени уже накоплено достаточное количество экспериментальных и клинических

наблюдений [3–5], свидетельствующих о позитивном воздействии тканевых МСК на структуру и показатели функции печени при ее хроническом фиброзирующем повреждении. Более того, в ряде исследований показана даже возможность регресса уже сформировавшегося фиброза при имплантации МСК. Однако не все исследователи признают фибролитический эффект МСК и даже указывают на возможность усиления фиброза при их использовании [6, 7]. Констатация диаметрально противоположных результатов применения МСК при фиброзирующих заболеваниях печени, по-видимому, является следствием недоучета влияния на результат их применения ряда индивидуально значимых сопутствующих факторов. К ним относятся: источник получения МСК, используемые дозы и кратность их применения, исходный уровень биорегуляторного потенциала МСК (аллогенные клетки здорового донора или аутологичные клетки пациента с ХПН); особенно важно подчеркнуть, что не учитывается степень обратимости уже имеющихся структурных (фиброзирующих) нарушений в печени, отражением которых, как полагают, является тяжесть развивающегося иммунного дисбаланса в организме и прогрессирование иммунного дефицита вплоть до развития иммунного паралича [8]. Противоречивость результатов применения МСК для коррекции фиброзирующих заболеваний печени, а также необходимость улучшения результатов терапевтического применения МСК при развитии в ней

деструктивных процессов привела нас к выводу о необходимости проведения сравнительной оценки особенностей участия МСК печени в обеспечении и поддержании ее структурного гомеостаза при развитии фиброзирующего повреждения, а также при терапевтическом применении МСК, выделенных из здоровых тканей для коррекции имеющихся структурных нарушений в печени.

Цель настоящей работы: на основе современных представлений о клеточных механизмах развития и прогрессирования процессов фиброзирования и для выявления факторов, способных повысить эффективность дефиброзирования печени с помощью МСК, провести сравнительный анализ биорегуляторной роли МСК печени по сохранению в ней тканевого гомеостаза на фоне воздействия повреждающих факторов, при развитии в ткани печени деструктивных фиброзирующих процессов, а также при коррекции их путем имплантации в организм МСК из здоровых тканей.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МСК В ТКАНЯХ ОРГАНИЗМА

МСК являются клетками мезодермального происхождения и обладают свойствами стволовых и прегениторных клеток. МСК способны к самообновлению и мультипотентной дифференцировке в клетки мезодермальной линии (хондроциты, остеобlastы, адипоциты, клетки скелетных мышц) а также в эктодермальные и некоторые эндодермальные клетки (в частности, в гепатоцитоподобные клетки) при создании им специальных условий при культивировании [5]. В настоящее время эти клетки подробно описаны, и классической характеристикой МСК является их фенотип [5]. МСК человека обладают положительной экспрессией мембранных маркеров – CD105, CD90, CD73 – и отрицательной экспрессией гемопоэтических и эндотелиальных маркеров – таких как CD45, CD34, CD14, CD19 и маркера человеческого лейкоцитарного антигена – DR изотипа. МСК мыши имеют положительную экспрессию мембранных маркеров – CD105, CD29, CD44 и маркера антигена стволовых клеток-1 (SCA-1) и отрицательную экспрессию CD45, CD31 и маркера антигена лимфоцитов 76 (Ly76). Мультипотентные (стволовые) свойства МСК обычно подтверждаются их дифференцировкой в клетки 3 основных линий – адипоциты, хондроциты и остеобласты. Отличительным свойством МСК является также присущая им экспрессия главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) I класса и отсутствие экспрессии ГКГС II класса, B7-1, B7-2, CD40 или CD40L, что позволяет им не участвовать в иммунном ответе и проявлять супрессивные свойства. МСК присутствуют практически во всех тканях организма. Особенно много

их содержится в тканях, имеющих мезодермальное происхождение [9], и поэтому МСК без больших затрат могут быть получены из костного мозга (КМ), жировой ткани, плаценты, Вартонова студня пуповины, из мышц, кожи, а также из пуповинной крови, амниотической жидкости и менструальной крови [5]. МСК активно пролиферируют при культивировании, и клеточная масса их может быть увеличена более чем в 100 раз без потери потенциала мультипотентной дифференцировки [9].

Присутствие МСК в различных органах и тканях организма указывает на их важную общую неспецифическую роль, которая состоит в обеспечении адаптивных и приспособительных реакций, в регуляции тканевого (структурного и функционального) гомеостаза, а также в индукции и поддержании процессов физиологической и восстановительной регенерации в тканях [10]. Эта регуляция осуществляется путем контакта и взаимодействия МСК с клетками их микроокружения, но прежде всего с клетками мезенхимального происхождения в ткани и циркулирующими клетками иммунной системы [5]. Помимо прямого контакта «клетка–клетка» МСК могут оказывать воздействие посредством аутоакринных и паракринных эффектов [11], реализуя и модулируя эволюционно приобретенные механизмы программируемой гибели клеток, а также изменения направленность и интенсивность функционирования важных метаболических путей [4, 10–13]. Кроме того, МСК присуща способность уходить из-под контроля врожденной иммунной системы, противодействовать системе комплемента [14] и в присутствии провоспалительных цитокинов развивать иммуносупрессивный эффект [15]. Однако в зависимости от состояния цитокинового микроокружения МСК и уровня сохранившихся тканевых адаптационных, компенсаторных и регуляторных резервов МСК могут проявлять как противовоспалительные, так и провоспалительные свойства, модулируя активность клеток врожденного и адаптивного иммунитета [9]. В результате при тканевом повреждении, сопровождающемся комплексным воздействием ряда тканевых факторов (уровень сохранившихся тканевых адаптационных резервов, состояние цитокинового микроокружения МСК, степень скоординированности присутствия различных типов клеток, длительность и выраженность развивающейся воспалительной реакции в зоне пребывания МСК и др.), появляется возможность возникновения двух противоположных результатов взаимодействия резидентных (тканевых) МСК с клетками мезенхимального происхождения в тканях, но прежде всего с фибробластами и миофибробластами (МФ), которые, как известно, в активированном состоянии становятся продуцентами компонентов внеклеточного матрикса.

Взаимодействие МСК с МФ при остром воздействии стрессорного (повреждающего) фактора будет способствовать сохранению тканевого гомеостаза и восстановительной регенерации (без фиброзных рубцов), если мощность и длительность воздействия этого фактора на ткань не превышает расхода имеющихся в ней адаптационных, компенсаторных и регуляторных резервов. В этих условиях гомеостатический эффект в ткани достигается благодаря тому, что МСК напрямую подавляют пролиферацию МФ и других клеток, способных дифференцироваться в МФ, а также индуцируют в них экспрессию проапоптотических белков [16] и снижают их активацию путем ингибирования сигнализации ядерного фактораkapпаB(NF- κ B) [17] без активации воспалительного ответа. Однако взаимодействие МСК с МФ ведет к прогрессирующему развитию фиброзирующего процесса в ткани, если мощность и длительность (хронического, рецидивирующего) стресс-повреждающего воздействия на ткань превышает эволюционно выработанные резервы ее адаптации, компенсации и регуляции. В этих условиях избыточное повреждение ткани с развитием некроза и дефицита функции ее паренхимы сопровождается дополнительной активацией апоптотической гибели паренхиматозных клеток вследствие их длительного функционального перенапряжения; продукты, высвобождаемые некротическими и апоптотическими клетками (уже с измененными генетическими свойствами), инициируют иммунный ответ и привлекают активированные клетки врожденного иммунитета в зоны повреждения, поддерживая в них процессы хронического воспаления. Одновременно активируется дифференцировка резидентных МСК (как стволовых/прогениторных клеток) в МФ и неконтролируемо нарастает активация МФ (активированные фибробласты), что проявляется чрезмерной продукцией ими компонентов внеклеточного матрикса и развитием фиброза тканей [9].

РОЛЬ РЕЗИДЕНТНЫХ (ПЕЧЕНОЧНЫХ) МСК В ПРЕДОТВРАЩЕНИИ ЭСКАЛАЦИИ ВОСПАЛЕНИЯ И В ПОДДЕРЖАНИИ ТКАНЕВОГО ГОМЕОСТАЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

В острой фазе повреждения, когда в клетках печени еще не истощены резервы адаптации и метаболической регуляции, вещества, высвобождаемые из некротических и апоптотических гепатоцитов (включая образование ROS-кислородных радикалов и продуктов их перекисного окисления), инициируют острый воспалительный ответ и привлекают в зону повреждения клетки врожденного иммунитета путем секреции хемокинов (CCL-2, CCL-5, CXCL-1, CXCL-15). Показано, что при активации воспали-

тельного ответа в печени путем секреции хемокинов участвуют не только гепатоциты, но и другие клетки печени, прежде всего печеночныеstellateклетки (ПСК) и резидентные (печеночные) макрофаги [9].

Полагают, что резидентные МСК печени также участвуют в развитии воспалительного ответа, так как показано, что МСК из КМ продуцируют хемокины в ответ на сигналы опасности (циркулирующие лиганды Толл-подобных рецепторов). Однако в ответ на провоспалительные сигналы МСК конститутивно (еще не истощены в клетках печени резервы адаптации и метаболической регуляции) способны ответить высокой иммуносупрессивной активностью [15] и предотвратить эскалацию острого воспаления. Было показано [9], что обработка МСК комбинацией провоспалительных цитокинов IFN γ и IL-1 β или TNF- α приводит к массивной выработке в МСК иммуносупрессивных молекул, таких как оксид азота (NO) и индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO), а также к выработке простагландинов E2 (PGE2) и TGF- β , что способствует последующему угнетению пролиферации провоспалительных Т-клеток и индукции противовоспалительных клеток. Накапливающиеся иммуносупрессивные молекулы вокруг активированных МСК синергично формируют иммуносупрессивные ниши в ткани печени. Полагают, что в этих нишах иммуносупрессивные функции МСК перестраивают иммунное микроокружение клеток ткани печени. Было показано [9], что для восстановления иммунного и тканевого гомеостаза в воспаленных тканях резидентные МСК усиливают апоптоз Th-1, Th-2, подавляют дифференцировку Th17 и способствуют накоплению Treg за счет высокой экспрессии индуцибелной синтазы оксида азота (iNOS), IDO, стимулированного фактором некроза опухоли гена-6 (TSG-6) и матричных металлопротеиназ (ММР). Эти данные согласуются с наблюдениями о значительном увеличении количества Treg клеток и снижении инфильтрации Th-17 клетками фиброзных тканей печени после трансфузии интактных донорских МСК [18, 19]. Кроме Т-клеток важную роль в иммунном гомеостазе печени играют макрофаги. Было показано [20], что МСК могут придавать макрофагам противовоспалительные свойства во время перехода моноцитов в макрофаги. Установлено, что индуктором развития такого эффекта служит выработка МСК инсулиноподобного фактора роста-2 (IGF-2). Даже в присутствии провоспалительных факторов макрофаги, запрограммированные IGF-2, приобретают противовоспалительные свойства за счет принуждения их к осуществлению процессов окислительного фосфорилирования и повышению экспрессии лиганда программируемой смерти-1 (PD-1) [20]. Примечательно, что IGF-2 оказывает дозозависимый эффект при обучении макрофагов: при низких концентрациях он связывает receptor IGF-2 на моноцитах,

наделяя макрофаги противовоспалительными свойствами; при высоких концентрациях – связывает на моноцитах рецептор IGF-1, а образующиеся макрофаги приобретают провоспалительные свойства [21]. Таким образом, результаты исследований последних лет показывают, что МСК, активированные остройми воспалительными сигналами, при повреждении печени способны контролировать чрезмерные провоспалительные иммунные реакции и поддерживать гомеостаз в ткани печени. Дополнительным регулятором тканевого гомеостаза в печени при остром повреждении выступают провоспалительные макрофаги, которые способны перепрограммироваться в противовоспалительные под воздействием IGF-2, продуцируемого МСК. Способность МСК тормозить развитие воспалительных реакций на раннем этапе повреждения печени предотвращает дальнейшую эскалацию иммуноклеточного и цитокинового воздействия на клетки печени, и прежде всего на клетки, способные дифференцироваться в МФ (ПСК, МСК, фибробласты печени), что предотвращает их активацию и развитие фиброза.

РОЛЬ РЕЗИДЕНТНЫХ (ПЕЧЕНОЧНЫХ) МСК В ПОДДЕРЖАНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ И РАЗВИТИИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

Переход острого воспаления в хроническое свидетельствует об истощении в клетках печени не только энергетических ресурсов, но также адаптивных и регуляторных резервов. Хотя при хроническом воспалении воспроизводятся более низкие уровни воспалительных сигналов, они, однако, по-прежнему побуждают МСК выделять хемокины и NO, а также привлекать иммунные клетки в ткань поврежденной печени [22]. Однако сниженное содержание iNOS и IDO, которые являются супрессирующими тканевые молекулами и выступают в качестве регулятора направленности МСК-зависимой иммуномодуляции, при хроническом воспалении способно лишь не препятствовать развитию иммуностимулирующего эффекта. Действительно, при генетическом устраниении iNOS из мышиных МСК и IDO из МСК человека иммуносупрессивное действие МСК, обработанных IFN γ и TNF α , снижалось, и наблюдался выраженный иммуностимулирующий результат [9]. Показано также, что несмотря на сниженный уровень цитокинов в ткани, не позволяющий вызвать оптимальную экспрессию супрессирующих тканевых молекул iNOS или IDO, МСК продолжают активироваться, выделять хемокины (такие как CXCL-9, CCL-5) и проявлять в этих условиях иммуностимулирующие способности, поддерживая воспаление [22]. TGF- β признан основным цитокином, способствующим развитию фиброза печени путем индукции МФ. Показано [23], что TGF- β поддерживает иммунное

воспаление, подавляя экспрессию iNOS, вызванную воспалительными цитокинами SMAD3-зависимым способом. При хроническом повреждении печени происходит снижение массы функционирующих гепатоцитов до критического уровня, которое создает условия для длительной гиперфункции оставшихся гепатоцитов, развития их апоптоза и гибели, а также для хронического поддержания иммуно-воспалительных реакций и окислительного стресса в клетках ткани печени. Окислительный стресс, сопровождающийся выработкой кислородных радикалов (ROS) и усилением процессов перекисного окисления, способствует поддержанию в активированном состоянии не только клеток иммунной системы, но и других клеток мезенхимального происхождения, присутствующих в печени – это печеночные стеллатные клетки (ПСК), резидентные МСК и порталные фибробласты печени. Активируясь в условиях цитокинового дисбаланса, эти клетки, но главным образом ПСК и МСК, экспрессируя TGF- β , пролиферируют и дифференцируются в МФ, которые, как известно, являются главными продуcentами внеклеточного матрикса (ВКМ) и индукторами формирования фиброза – патологического процесса аномальной гиперплазии соединительной ткани в печени [24, 25].

Механизмы участия резидентных (печеночных) МСК в патогенезе фиброзирования печени

В ответ на развивающееся повреждение печени в ней активируются печеночные МФ, являющиеся активными участниками регуляции тканевых адаптивных реакций. Полагают, что источниками появления многочисленных МФ в печени служат различные клетки мезенхимального происхождения – ПСК, порталные фибробласты, циркулирующие МСК из костного мозга, а также резидентные МСК печени [5]. В опытах *in vitro*, проведенных Mishara et al. [9], было подтверждено, что в условиях цитокинового дисбаланса резидентные МСК становятся источником накопления МФ-клеток, обеспечивающих продукцию ВКМ и развитие процессов избыточного фиброзирования печени. В этих опытах было показано, что добавление в культуру МСК TGF- β , одного из основных профибротических цитокинов, способствует индукции в МСК экспрессии α -SMA (α -гладкомышечный актин), который является признанным маркером МФ. Наступившее увеличение α -SMA $^+$ МФ наряду с увеличением ими продукции ВКМ становится неоспоримым подтверждением произошедшего перехода МСК в МФ. Способность МСК трансформировать свои свойства и приобретать функции МФ в условиях цитокинового дисбаланса *in vitro* позволяет предполагать, что подобные изменения в свойствах МСК происходят в тканях при

патологических условиях. В недавнем исследовании Kramann et al. [9], выполненном с Gli-1 – маркером резидентных (тканевых) МСК в печени – удалось показать, что в здоровой печени мышей количество Gli-1⁺МСК составляет 0,02% от общего количества резидентных клеток, тогда как при моделировании фиброза печени с помощью четыреххлористого углерода экспрессия Gli-1⁺МСК в печени резко увеличивается до 39%. Причем ими было установлено также, что именно тканевые, а не циркулирующие Gli-1⁺ клетки дифференцируются в МФ при повреждении печени. Хотя вклад резидентных МСК в пул печеночных МФ не вызывает сомнений, полагают, однако, что основным источником накопления МФ (до 80%) в печени при фиброзе являются ПСК и что ПСК является также основным источником избыточного образования ВКМ. Известно, что в физиологически спокойном (непролиферирующем) состоянии ПСК представляют собой перицитоподобные клетки с высоким содержанием витамина А и липидов. В ответ на хроническое повреждение печени воспалительными цитокинами, выделяемыми гепатоцитами и иммунными клетками, ПСК активируются, повышают экспрессию α -SMA и, превращаясь в МФ, становятся источником накопления ВКМ и формирования фиброзной ткани [5]. Активации ПСК и формированию фиброзной ткани в печени способствует также воздействие на них провоспалительных цитокинов и

фиброзирующих факторов роста (IL-6, IL-1 β , TNF- α , TGF- β и тромбоцитарный фактор роста (PDGF) [24, 25], которые поступают из соседних стимулированных эпителиальных, эндотелиальных клеток, иммунных клеток, прибывших в зону повреждения, и резидентных печеночных фибробластов. Схема участия резидентных (печеночных) МСК в патогенезе фиброзирования печени представлена на рис. 1

Молекулярные и генетические механизмы фиброгенеза

В процессе фиброзирования тканей участвует множество ключевых молекул [5], среди которых наиболее важными являются TGF- β , цитокины, обеспечивающие межклеточные взаимодействия, интегрины, трансмембранные рецепторы и другие факторы.

TGF- β является основным фактором, приводящим к фиброзу. В ответ на повреждение ткани фибробlastы выделяют TGF- β , который, действуя через 2 типа рецепторов (TbRI и TbRII), координирует процессы местного воспаления, активации МФ и иммунные реакции в процессе развития фиброза. Показано также, что TGF- β , выделяемый макрофагами при фиброзе печени, взаимодействуя с другими профибротическими факторами (PDGF, MMPs), способствует усилению воспалительной реакции и развитию цирроза

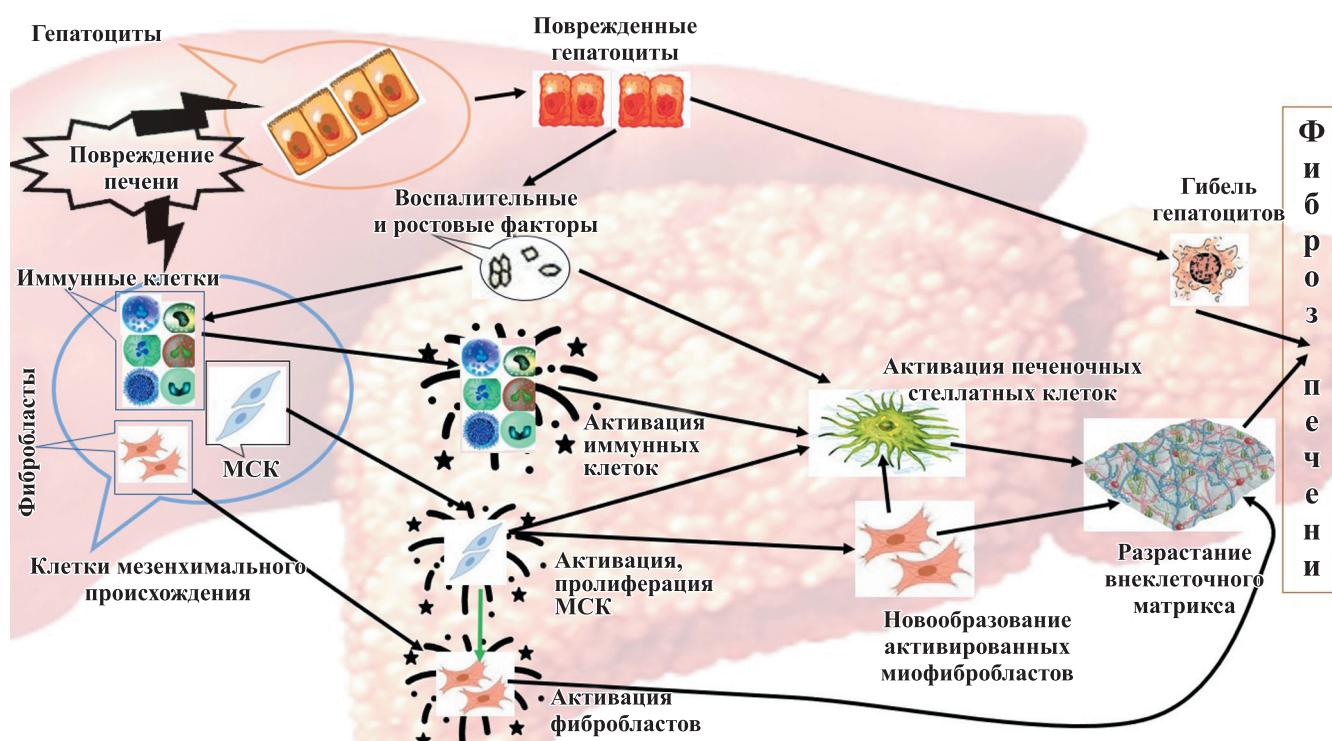


Рис. 1. Схема участия резидентных (печеночных) МСК в патогенезе фиброзирования печени. Стрелки указывают на развивающиеся взаимодействия клеток печени под влиянием хронического повреждающего воздействия

Fig. 1. Schematic representation of the role of resident (hepatic) MSCs in the pathogenesis of liver fibrosis. Arrows indicate the interactions developing between liver cells under chronic damaging effects

через TGF- β 1-Smad- или через PI3K-AKT-сигнальные пути [5]. Сигнальные пути TGF- β , в свою очередь, координируются транскрипционными факторами, например PU.1, экспрессия которого индуцирует экспрессию профиброзных генов в фибробластах и выработку избыточного количества ВКМ [26–28].

Цитокины и наиболее изученные из них провоспалительные цитокины – IL-1–IL-17 также считаются важными индукторами фиброза, которые действуют как синергисты активации сигнальных путей TGF- β . В частности, показано, что повышенный уровень IL-17, секреируемый CD4 $^{+}$ -T-лимфоцитами, играет важную роль в развитии фиброза многих тканей, в том числе печени [29]. Однако IL-13, продуцируемый Th-2-лимфоцитами, способствует развитию фиброза независимо от TGF- β , и это происходит, как полагают, за счет его прямого воздействия на коллаген-продуцирующие фибробласти. Участие этих цитокинов в развитии фиброза подтверждает тот факт, что у мышей с дефицитом IL-13, IL-4R или IL-13R β наблюдалось уменьшение фиброза тканей после различных типов их повреждения [5].

Интегрины, являясь трансмембранными рецепторами клеток, обеспечивают взаимодействие ВКМ с внутренним цитоскелетом клеток и влияют на различные формы клеточного поведения. В настоящее время изучено несколько синергических механизмов взаимодействия интегринов с путями активации TGF- β и белками ВКМ, приводящими к активации фиброза. Так, было установлено, что до активации TGF- β существует в виде комплекса, состоящего из латентно ассоциированного белка (LAP) и латентного TGF- β -связывающего белка [30], и что интегрины, связывающиеся с этими неактивными формами, способны вызвать активацию TGF- β . В частности, показано, что интегрин avb6 активирует TGF- β через связывание с LAP белка TGF- β , который участвует в развитии фиброза органов, в том числе печени. Установлено также, что интегрины – a8b1 и a11b1 значительно повышены в ПСК, которые способствуют развитию фиброза печени через активацию TGF- β [31].

Нарушения микробиома кишечника также могут влиять на прогрессирование фиброза печени [32]. У пациентов с хроническими заболеваниями печени бактерии и продукты их жизнедеятельности часто переносятся в печень через нарушенный кишечный барьер. В результате дисбиоза кишечника в печени наступает активация врожденного иммунитета и запускается выработка провоспалительных цитокинов, которые активируют ПСК и накопление ими ВКМ, приводящих к фиброзу печени [33]. В то же время блокирование Толл-подобного рецептора-4 (TLR-4) у мышей и снижение воздействия кишечных микробов на печень с помощью антибиотиков замедляет развитие фиброза печени.

Развитие фиброза печени сопряжено также с изменениями функционирования ряда генетических и молекулярных механизмов в печени. Ранее [5] было показано, что гены, опосредованные рецепторами программируемой смерти (например TRAIL, Bcl-xL, Fas), молекулы проапоптотического пути (каспаза-3) и натуральные киллеры (NKT) включаются в процесс апоптоза гепатоцитов, который является начальным событием повреждения печени при фиброзе. Показано также [34], что переход фиброза печени в цирроз характеризуется изменением уровней экспрессии мРНК ряда генов (tweak, fn 14, ang, vegfa, cxcl 12 и mmp-9), а также изменением силы взаимосвязи между ними. В точке перехода фиброза в цирроз еще сохраняется максимальное количество корреляционных связей между уровнями мРНК всех генов-мишеней. Однако при циррозе практически все связи ослабевают или полностью прекращаются, свидетельствуя о глубокой перестройке и практически полной утрате регуляции метаболических процессов в цирротической ткани и декомпенсации регуляторных функций МСК.

МЕХАНИЗМЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННЫХ МСК НА ПОВРЕЖДЕННУЮ ПЕЧЕНЬ

В отличие от эндогенных (резидентных) МСК печени экзогенные изолированные МСК (аутологичные из жировой ткани и аллогенные или ксеногенные, выделенные из тканей здорового организма) [4, 35], сохраняют свои регуляторные резервы и регулирующие гомеостаз функции. В многочисленных доклинических и клинических исследованиях показано, что терапевтические эффекты экзогенных МСК при фиброзирующих заболеваниях печени реализуются за счет активации в них эволюционно выработанных механизмов стресс-адаптации и выживания путем спонтанного перехода МСК после трансплантации (новые условия) в состояние апоптоза и некробиоза [10–13]. В состоянии апоптоза МСК продуцируют в окружающую среду многочисленные паракринные (внеклеточные везикулы – экзосомы, микровезикулы, апоптотические тельца) и трофические факторы (факторы роста, протеазы, гормоны, разные типы РНК, цитокины, хемокины и др.) [10, 36], которые оказывают мощное регуляторное воздействие: обеспечивают защиту поврежденных гепатоцитов, ингибирование активации ПСК и МФ, а также способствуют деградации ВКМ и иммуномодуляции, ослабляющей выраженную воспалительные процессы в печени. В недавно проведенном метаанализе механизмов и эффективности доклинического применения МСК при фиброзе печени было установлено [37], что МСК из различных источников существенно улучшают функцию печени, снижают активность ПСК,

т. к. тормозят экспрессию главного профиброгенного фактора TGF- β , и значительно уменьшают зону фиброза. В этой работе также подчеркивалось, что противофибротический эффект от применения МСК из КМ был наиболее выраженным по сравнению с применением МСК из других источников.

Защита поврежденных гепатоцитов

Путь, по которому экзогенные МСК участвуют в восстановительной регенерации печени, напрямую связан с выработкой ими паракринных факторов в процессе апоптоза и некробиоза [38]. Показано, что кондиционированная среда, полученная при культивировании МСК, а также сами МСК без и в сочетании с факторами роста (VEGF) эффективно подавляют гибель гепатоцитов и способствуют регенерации печени [39, 40]. Экзосомы, выделенные из МСК, оказались способны подавлять ферроптоз (один из механизмов программируемой гибели клеток), а также стабилизировать уровень белка-SLC7A11 в печени при ее CCL4-повреждении [41]. Установлено, что защиту гепатоцитов от повреждения МСК реализуют через паракринные механизмы путем активации в них аутофагии – механизма, запускающего регенерационный процесс [42]. Было показано, что Let-7a-5p под воздействием экзосом МСК активирует аутофагию гепатоцитов и запускает регенерационный процесс в печени путем воздействия на митоген-активированную киназу протеиназы-3 (MAP4K3) гепатоцитов [43]. Такими регуляторными путями МСК способны ограничивать повреждение гепатоцитов и снижать интенсивность развития фиброза печени.

Ингибиование активности ПСК и МФ

Для контроля динамики фиброза обычно используется стратегия ингибиции активации ПСК для достижения антифибротического эффекта. Поэтому влияние МСК на деактивацию ПСК особенно важно учитывать для контроля эффективности лечения фиброза печени. В опытах с моделированием фиброза печени было доказано, что трансплантация МСК устраняет фиброз печени путем ингибирования пролиферации ПСК и стимулирования их апоптоза [44]. Еще несколько работ подтвердили супрессивный эффект МСК на ПСК [45, 46]. Показано, что МСК из пуповины ингибируют TGF- β 1 при фиброзе печени через паракринные механизмы [47]. МСК из жировой ткани приводят к блокированию ПСК в фазе G0/G1 митотического цикла и благоприятствуют ослаблению фиброза печени, снижая содержание профиброгенных белков [44, 48]. МСК снижают пролиферацию ПСК путем активации сигнальных путей Notch и Hippo/Yap/Id 1 [45, 46]. МСК ингибируют активацию ПСК также путем угнетения сигнальных путей -PI3K/AKT/mTOR [44] и -p38 MARK/NF-kB через регуляцию miR20a-5p/TGF-BR-2 [48] и путем

Hedgehog/SMO, которые играют решающую роль в развитии фиброза [49]. Полагают, что МСК из пуповины человека подавляют пролиферацию ПСК также путем ингибирования экспрессии белка Smad3 при увеличении экспрессии Smad7 [47]. Появились данные, что МСК играют ключевую роль в процессе деградации ВКМ [40, 48]. МФ способны поглощать выделенные из МСК внеклеточные везикулы, чтобы снизить уровень мРНК коллагена 1-го типа и тем самым уменьшить выработку ВКМ МФ [50]. Было высказано предположение, что эти эффекты опосредованы молекулами микро-РНК (miR-21 и miR-29c), которые взаимодействуют с сигнальными молекулами при производстве ВКМ. МСК продуцируют также ферменты, способствующие ремоделированию ВКМ, включая MMP2, MMP9 и их тканевые ингибиторы (TIMP1 и TIMP2), которые снижают накопление ВКМ в зонах фиброзирования [9].

Иммуномодуляция воспалительного микроокружения МСК

Иммуномодулирующие свойства МСК играют важную роль в ослаблении фиброза печени [51]. Оказалось, что путем контакта с клетками микроокружения и секреции паракринных иммунорегуляторных факторов, таких как гемоксигеназа-1 (HO-1), NO, PGE-2, IDO, IL-6, HLA-G5, МСК реализуют свой иммуносупрессивный потенциал и влияют на врожденные и адаптивные иммунные реакции, регулируя свойства NK, Treg, миелоидных супрессорных клеток (MDSC), нейтрофилов, макрофагов, а также Т- и В-лимфоцитов [22, 35, 52, 53]. С помощью иммунорегуляторных факторов и механизмов МСК уменьшают повреждение печени, вызванное воспалением [40], а также реципрокно регулируют иммунный ответ, создавая условия для регенерации печени [54]. МСК способны изменять фенотипы Т-лимфоцитов, увеличиваю накопление CD4 $^{+}$ CD25highCD45RA $^{+}$ Tregs и модулируют продукцию соответствующих цитокинов [55, 22]. Активация аутофагии в МСК способствует усилию иммуносупрессии CD4 $^{+}$ -Т-клеток; при фиброзе печени МСК способствуют переходу моноцитов в макрофаги и переводят провоспалительные макрофаги M-1 в противовоспалительные макрофаги M-2 в зависимости от уровня PGE2 [9].

Циркулирующие моноциты также путем фагоцизма апоптотических МСК переносят иммуномодуляторные молекулы МСК в провоспалительные зоны, и таким путем достигается состояние системной иммуносупрессии [56]. С помощью иммуномодулирующих факторов МСК уменьшают повреждение печени, вызванное воспалением, и создают условия для восстановительной регенерации [40]. В последние годы показано, что экзосомы, полученные из МСК, демонстрируют такие же эффективные иммуномоду-

лирующие и противовоспалительные способности, как и МСК [51, 57]. Схема регуляторного участия экзогенных апоптотических МСК из здоровых тканей в процессах дефиброзирования печени представлена на рис. 2.

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ РЕГУЛЯТОРНОЙ И АНТИФИБРОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКЗОГЕННЫХ МСК

Известно, что терапевтический эффект от применения изолированных апоптотических МСК не всегда выражен, особенно при хронических фиброзирующих заболеваниях печени. Полагают, что это связано с их изоляцией, низкой выживаемостью и постепенной гибелью в организме реципиента. В результате МСК быстро утрачивают способность к хомингу (колонизации печени), гепатогенной дифференцировке и к выработке паракринных и трофических модулирующих факторов. Эти обстоятельства тормозят их широкое клиническое применение.

Предварительная адаптирующая подготовка МСК

Предпринимаются многочисленные попытки повышения регуляторного потенциала МСК путем изменения условий их культивирования и включения в состав культуральной среды различных факторов,

тренирующих (адаптирующих) их к воздействию нетрадиционных, дефицитных или даже неблагоприятных, в том числе фиброгенных факторов [58]. Среди факторов для предварительной обработки МСК используют факторы роста, липиды, витамины, гормоны, факторы воспаления и условия гипоксии [9, 59]. Предварительное сокульттивирование МСК из пуповины с Schisandrin B (один из главных компонентов Schisandra chinensis, которая препятствует прогрессированию фиброза) [60], а также обработка МСК HGF или FGF-4 перед трансплантацией [61] способствовали трансдифференцировке МСК в гепатоцитоподобные клетки, улучшению их прививления и усилиению терапевтического эффекта у мышей с CCL4-индукцированным фиброзом. МСК, предварительно обработанные гормоном мелатонин [58, 62], проявляли высокую способность к хомингу в поврежденные участки печени, способствовали сохранению гликогена в гепатоцитах и уменьшали накопление коллагена и липидов в фиброзной ткани печени. Аналогичные результаты были получены при использовании бензимитазола [63], эвгенола [64], витамина Е [65], L-теанина [66]. Комбинированная подготовка МСК плазмой, обогащенной тромбоцитами и HGF [67], значительно усиливала антифибротический эффект, ингибировала пролиферацию ПСК, тормозила синтез гликогена, пролонгировала апоп-

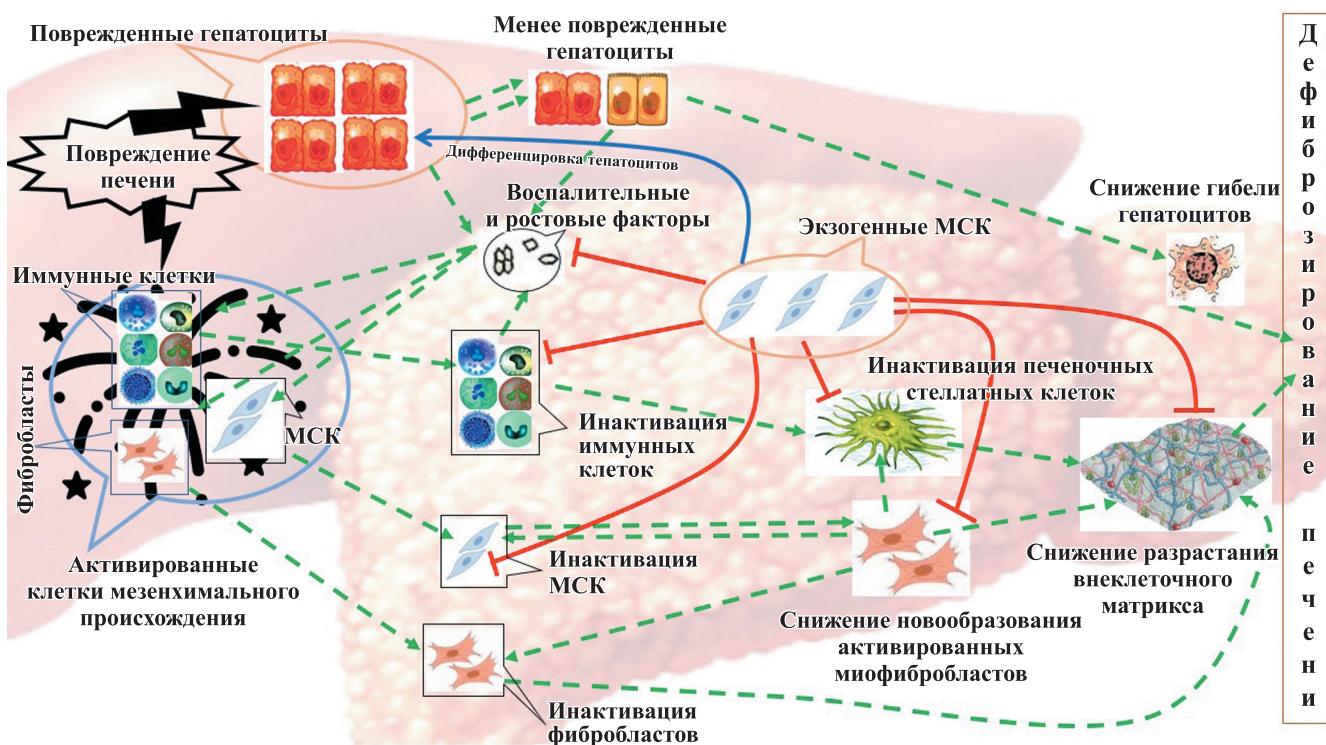


Рис. 2. Схема участия экзогенных апоптотических МСК, выделенных из здоровых тканей, в процессах дефиброзирования печени. Подробности в тексте

Fig. 2. Diagram showing the involvement of exogenous apoptotic MSCs isolated from healthy tissues in the processes of liver defibrosis. Details in the text

тоз, способствовала проявлению иммуномодуляции, трансдифференцировке МСК в гепатоцитоподобные клетки, секреции трофических факторов, цитокинов, хемокинов и более эффективной регенерации поврежденной печени. Среди факторов, оказывающих выраженный антифибротический и регенерационный эффект, следует выделить также прекондиционирование МСК гипоксией [68], предподготовку провоспалительными факторами – IFN- α 2 [69], TLR4 и IFN γ [70]. Оказалось, что предварительная обработка МСК провоспалительными факторами индуцировала более высокие уровни секреции CSF-3, IL-8, хемокина CCL20 по сравнению с МСК без обработки. Кроме того, обработанные МСК проявляли более высокую терапевтическую активность, а иммуногистохимический анализ выявил скопление нейтрофилов и повышение активности MMP-8 в печень [69]. МСК, активированные TLR4 и IFN γ , снижали уровень связанного с фиброзом актина- α 2, а также TGF- β и TNF- α в печени. Гипоксическое прекультивирование МСК снижало выраженную фиброза в печени, содержание в ней коллагена и клеток, экспрессирующих α -SMA и TGF- β [68]. В последнее время появилось много публикаций о позитивном синергизме применения МСК или их экзосом в комбинации с различными химическими препаратами [67, 68, 71] в опытах с моделированием фиброза печени.

Генная модификация МСК

Генная модификация МСК, проведенная с помощью вирусных и невирусных векторов, способствовала повышению способности этих клеток к хомингу, дифференцировке и восстановительной регенерации фиброзированной печени. В МСК сверхэкспрессировали гены, которые играют важную роль в регенерации печени. Среди них HGF [72], IGF-1, печеночный ядерный фактор – HNF-4a, FGF-4, FGF-21, IL-10, ген внеклеточного матрикса 1 (ECM-1) и др., каждый из которых способствовал улучшению терапевтического эффекта при лечении фиброза печени [9]. При экспрессии в МСК гена FOXA-2 дефиброзирование печени происходило на фоне усиления гепатогенной дифференцировки МСК и повышения экспрессии ряда специфических печеночных генов, таких как а-фетопротеин, цитокератин-18 (CK-18), HNF-1 и HGF. Кроме сверхэкспрессии генов-мишней модификация микро-RНК, например miR-122, также способствует повышению терапевтической эффективности МСК из жировой ткани при лечении фиброза печени за счет подавления активности ПСК и уменьшения отложения коллагена [73]. При модификации гена IL-10 в МСК достигалось ингибирование активности ПСК и экспрессия TNF- α в Т-лимфоцитах/макрофагах, выделенных из фиброзной печени [74]. Такой результат свидетельствует о возможности усиления иммуномодулирующей спо-

собности МСК при модификации их иммунных генов. Приведенные выше факты позволяют признать модификации специфических генов МСК потенциально новой стратегией повышения эффективности лечения фиброза печени.

Использование клеточных культуральных конструкций из МСК (сфериоиды и клеточно-инженерные конструкции)

Известно, что фенотипическая и биологическая активность 3D (трехмерных) клеточных культур выше активности 2D (двумерных) клеточных культур. Проведенные исследования терапевтического потенциала сфериоидов МСК [75] подтвердили, что сфериоиды МСК обладают более выраженной мультипотентной дифференцировкой, а также противовоспалительной и регенераторной активностью за счет секреции более высокого уровня цитокинов. При моделировании цирроза печени у мышей применение МСК в 3D-культуре способствовало гепатогенной дифференцировке этих клеток, улучшению функционального состояния печени и проявлению антифибротического эффекта [76]. Более высокая функциональная активность МСК в 3D-культуре, по-видимому, обусловлена их повышенной стволовостью, а также противовоспалительными и иммуномодулирующими функциями. Это проявляется повышенной экспрессией маркеров стволовых клеток (OCT-4, SOX2, NANOG), провоспалительных факторов (IL-10, TSG-6 IDO), иммуномодулирующих молекул (HGF, VEGF и хемокинового рецептора CXCR4) [77] и активацией TGF- β 1/Smad-метаболического пути [78]. Было показано также, что у обезьян-rhesus с моделью фиброза печени при введении 3D-культуры МСК в v. porta сохранялось их сферическое состояние в печени в течение 1 часа, а через 16 дней МСК хотя и диссоциировали на отдельные клетки, но все еще находились в печени в достаточном количестве, т. е. сохраняли свойства хоминга [78]. Для пролонгирования функциональной активности МСК при лечении хронической печеночной недостаточности в эксперименте продолжается совершенствование и применение имплантируемых в печень клеточно-инженерных конструкций (КИК). Эти КИК представляют собой биополимерные конструкции, основу которых составляет биомиметик ВКМ, например, либо коллагенсодержащий гидрогель (сферогель) [79], либо рекомбинантный спидроин (rS1/9) – аналог белков каркасной нити паутины [80], либо тканеспецифический матрикс на основе децеллюляризованной печени [81] с адгезированными на их поверхности МСК из КМ в комбинации с гепатоцитами в соотношении 1 : 5. При множественной имплантации в печень таких КИК и последующем наблюдении в течение 90 дней

эти авторы выявили ускоренную и более мощную восстановительную регенерацию печени: уже к 30-му дню после имплантации восстанавливались биохимические показатели функции печени, тогда как структурное восстановление печени и процессы дефиброзирования (уменьшения площади ВКМ) продолжались в течение всего срока наблюдения. В последние годы для адгезии МСК была разработана новая клеточно-инженерная технология получения клеточных листов – матриков с использованием термозависимой культуральной посуды, покрытой поли(N-изопропилакриламидом). Сочетанное использование технологии создания клеточных листов-матриков и адгезия на них МСК, предварительно обработанных препаратором IC-2 (IC-2 является производным ICG-001 – ингибитора Wnt/b – катенин-сигнализации и использован для индукции их печеночной дифференцировки), позволило предложить новую стратегию лечения хронических заболеваний печени [82–84]. Ортопотическая имплантация МСК в виде конструированных МСК-IC-2 листов в печень мышей с CCL4-индукционном фиброзом сопровождалась выработкой высоких уровней MMP-1 и MMP-14 в ткани печени, подавляла активацию ПСК и уменьшала выраженность фиброза.

Отметим, что в большинстве научных работ, посвященных созданию биополимерных миметиков естественного ВКМ для КИК, исследователи идут двумя путями: либо делают упор на использование отдельных биополимерных компонентов ВКМ (коллаген, гиалуроновая кислота, продукт денатурации коллагена – желатин) с возможностью регулирования морфологических характеристик носителя клеток и включения в него дополнительных молекул, либо получают клеточные носители из тканей путем децеллюляризации, при этом максимально сохраняя состав ВКМ, но теряя возможность модификации его структуры, регуляции механических свойств и срока биодеградации. Целесообразным представляется возможность совместить оба подхода, создав носитель нового поколения с близким к естественному ВКМ составом и необходимыми физико-химическими свойствами, а также способностью включать в состав биоактивные молекулы. Макропористая морфология носителя по всему объему материала наиболее благоприятна для заселения клетками и васкуляризации. В связи с этим представляется перспективным использование в качестве основы для новых материалов – продукта ферментативного гидролиза децеллюляризованной печени, а для придания ему необходимых структурных и механических свойств – применение метода криоструктурирования. Ранее криоструктуры из желатина и гидролизата продемонстрировали способность длительно поддерживать адгезию и пролиферацию МСК жировой ткани человека, а также синтез альбумина и моче-

вины тканеспецифическими клетками гепатоцеллюлярной карциномы НерG2 [85, 86]. Подобный подход позволит поддерживать жизнеспособность МСК и гепатоцитов в КИК после имплантации, а следовательно, пролонгировать срок функционирования КИК в организме.

Следует, однако, отметить, что повышение терапевтической и антифибротической активности экзогенных МСК указанными способами может быть достигнуто, только если печень реципиента не находится в состоянии необратимого повреждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен сравнительный анализ регуляторных свойств МСК в тканях здорового организма, а также при остром и хроническом (фиброзирующем) повреждении печени. Присутствуя практически во всех тканях организма, МСК в здоровом организме обеспечивают поддержание структурного гомеостаза и процессов физиологической регенерации тканей, взаимодействуя прежде всего с тканевыми миофибробластами (МФ) и мигрирующими клетками иммунной системы, имеющими, как и МСК, мезодермальное происхождение. При остром повреждении печени, когда сила и мощность повреждающего фактора не превышает расход эволюционно выработанной нормы тканевых и клеточных адаптационных резервов, резидентные МСК в печени продолжают регуляторно поддерживать тканевой гомеостаз. Хроническое (фиброзирующее) повреждение печени истощает резервы тканевой и клеточной адаптации, компенсации и регуляции, способствует активации клеток иммунного воспаления и резидентных (печеночных) МСК, индуцируя их переход в МФ. МФ (активированные фибробlastы), продуцируя избыточные количества внеклеточного матрикса, способствуют активации в печени процессов фиброзирования. Экзогенные МСК из здоровых ауто- или аллогенных тканей после изоляции переходят в состояние обратимого апоптоза и обеспечивают на более высоком уровне доставку регуляторных и адаптирующих факторов. При введении в организм экзогенные апоптотические МСК за счет выделяемых ими паракринных и трофических факторов восполняют их дефицит и осуществляют регуляцию тканевого гомеостаза в хронически поврежденной печени. Надежно восстановить регуляцию метаболизма и структурного гомеостаза в поврежденной печени с помощью экзогенных МСК можно, если повысить их регуляторную активность (путем их предварительной адаптирующей медикаментозной подготовки, генной модификации или использования в виде биоинженерных клеточно-матриксных конструкций) и если уровень сохранившихся регуляторных резервов в хронически поврежденной печени еще не достиг критического уровня (состояния необратимости).

Для прогнозирования индивидуальной терапевтической эффективности применения экзогенных МСК в клинике при хронических фиброзирующих заболеваниях печени должны быть разработаны удобные и достоверные критерии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-25-00425, <https://rscf.ru/project/25-25-00425/>.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Halliday N, Westbrook RH. Liver transplantation: need, indications, patient selection and pre-transplant care. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2017; 78 (5): 252–259. doi: 10.12968/hmed.2017.78.5.252.
2. Olivo R, Guerrera JV, Pyrsopoulos NT. Liver Transplantation for Acute Liver Failure. *Clin Liver Dis*. 2018; 22 (2): 409–417. doi: 10.1016/j.cld.2018.01.014.
3. Басок ЮБ, Пономарева АС, Грудинин НВ, Круглов ДН, Богданов ВК, Белова АД, Севастьянов ВИ. Применение мезенхимальных стromальных клеток при трансплантации солидных органов: вызовы и перспективы (систематический обзор). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025; 27 (1): 114–134. Basok YuB, Ponomareva AS, Grudinin NV, Kruglov DN, Bogdanov VK, Belova AD, Sevastyanov VI. Application of mesenchymal stromal cells in solid organ transplantation: challenges and prospects (systematic review). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (1): 114–134. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2025-1-114-134>.
4. Eom YW, Kang SH, Kim MY, Lee JI, Baik SK. Mesenchymal stem cells to treat liver diseases. *Ann Transl Med*. 2020; 8: 563. doi: 10.21037/atm.2020.02.163.
5. Qin L, Liu N, Bao CL, Yang DZ, Ma GX, Yi WH et al. Mesenchymal stem cells in fibrotic diseases – the two sides of the same coin. *Acta Pharmacol Sin*. 2023; 44 (2): 268–287. doi: 10.1038/s41401-022-00952-0.
6. Carvalho AB, Quintanilha LF, Dias JV, Paredes BD, Mannheimer EG, Carvalho FG et al. Bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells do not reduce fibrosis or improve function in a rat model of severe chronic liver injury. *Stem Cells*. 2008; 26 (5): 1307–1314. doi: 10.1634/stemcells.2007-0941.
7. Quante M, Tu SP, Tomita H, Gonda T, Wang SS, Takanishi S et al. Bone marrowderived myofibroblasts contribute to the mesenchymal stem cell niche and promote tumor growth. *Cancer Cell*. 2011; 19: 257–272. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.01.020>.
8. Онищенко НА, Никольская АО, Шагидуллин МЮ. Прогрессирующая дисфункция иммунитета как фактор, препятствующий восстановительной регенерации печени при хронических фиброзирующих заболеваниях. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67 (3): 109–123. Onishchenko NA, Nikolskaya AO, Shagidulin MYu. Progressive dysfunction of the immune system as a factor preventing recoverable regeneration of the liver in chronic fibrosing diseases. *Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian journal*. 2023; 67 (3): 109–123. doi: 10.25557/0031-2991.2023.03.109-123.
9. Yang X, Li Q, Liu W, Zong C, Wei L, Shi Y, Han Z. Mesenchymal stromal cells in hepatic fibrosis/cirrhosis: from pathogenesis to treatment. *Cell Mol Immunol*. 2023; 20 (6): 583–599. doi: 10.1038/s41423-023-00983-5. Epub 2023 Feb 24. Erratum in: *Cell Mol Immunol*. 2023; 20 (6): 687–688. doi: 10.1038/s41423-023-01010-3.
10. Kholodenko IV, Kholodenko RV, Majouga AG, Yarygin KN. Apoptotic MSCs and MSC-Derived Apoptotic Bodies as New Therapeutic Tools. *Curr Issues Mol Biol*. 2022; 44 (11): 5153–5172. doi: 10.3390/cimb44110351.
11. Gnechi M, Danieli P, Malpasso G, Ciuffreda MC. Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cells in tissue repair. *Methods Mol Biol*. 2016; 1416: 123–146. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3584-0_7.
12. Naji A, Favier B, Deschaseaux F, Rouas-Freiss N, Eitoku M, Saganuma N. Mesenchymal stem/stromal cell function in modulating cell death. *Stem Cell Res Ther*. 2019; 10: 56. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1158-4>.
13. Weiss DJ, English K, Krasnodembskaya A, Isaza-Correia JM, Hawthorne IJ, Mahon BP. The necrobiology of mesenchymal stromal cells affects therapeutic efficacy. *Front Immunol*. 2019; 10: 1228. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01228>.
14. Mishra VK, Shih HH, Parveen F, Lenzen D, Ito E, Chan TF, Ke LY. Identifying the therapeutic significance of mesenchymal stem cells. *Cells*. 2020; 9: 1145. <https://doi.org/10.3390/cells9051145>.
15. Wang Y, Fang J, Liu B, Shao C, Shi Y. Reciprocal regulation of mesenchymal stem cells and immune responses. *Cell Stem Cell*. 2022; 29 (11): 1515–1530. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2022.10.001>.
16. Qiao H, Zhou Y, Qin X, Cheng J, He Y, Jiang Y. NADPH oxidase signaling pathway mediates mesenchymal stem cell-induced inhibition of hepatic stellate cell activation. *Stem Cells Int*. 2018; 10: 1239143. <https://doi.org/10.1155/2018/1239143>.
17. Lee C, Kim M, Han J, Yoon M, Jung Y. Mesenchymal stem cells influence activation of hepatic stellate cells, and constitute a promising therapy for liver fibrosis. *Bio-medicines*. 2021; 9: 1598. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111598>.
18. Milosavljevic N, Gazdic M, Simovic Markovic B, Arsenijevic A, Nurkovic J, Dolicanin Z et al. Mesenchymal stem cells attenuate liver fibrosis by suppressing Th17 cells – an experimental study. *Transpl Int*. 2018; 31: 102–115. <https://doi.org/10.1111/tri.13023>.
19. Chen QH, Wu F, Liu L, Chen HB, Zheng RQ, Wang HL, Yu LN. Mesenchymal stem cells regulate the Th17/Treg cell balance partly through hepatocyte growth factor *in vitro*. *Stem Cell Res Ther*. 2020; 11: 91. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01612-y>.
20. Du L, Lin L, Li Q, Liu K, Huang Y, Wang X et al. IGF-2 preprograms maturing macrophages to acquire oxidative phosphorylation-dependent anti-inflammatory proper-

- ties. *Cell Metab.* 2019; 29: 1363–1375.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.01.006>.
21. Wang X, Lin L, Lan B, Wang Y, Du L, Chen X et al. IGF2R-initiated proton rechanneling dictates an anti-inflammatory property in macrophages. *Sci Adv.* 2020; 6: eabb7389. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb7389>.
 22. Hu C, Wu Z, Li L. Mesenchymal stromal cells promote liver regeneration through regulation of immune cells. *Int J Biol Sci.* 2020; 16: 893–903. <https://doi.org/10.7150/ijbs.39725>.
 23. Xu C, Yu P, Han X, Du L, Gan J, Wang Y et al. TGF-beta promotes immune responses in the presence of mesenchymal stem cells. *J Immunol.* 2014; 192: 103–109. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302164>.
 24. De Araújo Farias V, Carrillo-Gálvez AB, Martín F, Anderson P. TGF-beta and mesenchymal stromal cells in regenerative medicine, autoimmunity and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018; 43: 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.cytofr.2018.06.002>.
 25. Kissileva T. The origin of fibrogenic myofibroblasts in fibrotic liver. *Hepatology.* 2017; 65: 1039–1043. <https://doi.org/10.1002/hep.28948>.
 26. Bernard NJ. PU.1 pulls the strings in fibrotic disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2019; 15: 187. <https://doi.org/10.1038/s41584-019-0193-y>.
 27. Wohlfahrt T, Rauber S, Uebe S, Luber M, Soare A, Ekićci A et al. PU.1 controls fibroblast polarization and tissue fibrosis. *Nature.* 2019; 566: 344–349. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0896-x>.
 28. Liu Q, Yu J, Wang L, Tang Y, Zhou Q, Ji S et al. Inhibition of PU.1 ameliorates metabolic dysfunction and non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2020; 73: 361–370. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.02.025>.
 29. Gu L, Xu Q, Cao H. 1,25(OH)₂D₃ protects liver fibrosis through decreasing the generation of TH17 cells. *Med Sci Monit: Int Med J Exp Clin Res.* 2017; 23: 2049–2058. <https://doi.org/10.12659/msm.904271>.
 30. Yokota T, McCourt J, Ma F, Ren S, Li S, Kim TH et al. Type V collagen in scar tissue regulates the size of scar after heart injury. *Cell.* 2020; 182: 545–562.e523. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.030>.
 31. Nishimichi N, Tsujino K, Kanno K, Sentani K, Kobayashi T, Chayama K et al. Induced hepatic stellate cell integrin, α8β1, enhances cellular contractility and TGFβ activity in liver fibrosis. *J Pathol.* 2021; 253: 366–373. <https://doi.org/10.1002/path.5618>.
 32. Lee G, You HJ, Bajaj JS, Joo SK, Yu J, Park S et al. Distinct signatures of gut microbiome and metabolites associated with significant fibrosis in nonobese NAFLD. *Nat Commun.* 2020; 11: 4982. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18754-5>.
 33. Koyama Y, Brenner DA. Liver inflammation and fibrosis. *J Clin Invest.* 2017; 127: 55–64. <https://doi.org/10.1172/jc.2016.128881>.
 34. Лебедева ЕИ, Щастный АТ, Бабенко АС. Модель токсического фиброза у крыс линии Wistar: морфологические и молекулярно-генетические параметры точки перехода в цирроз. *Гены и клетки.* 2023; 18 (3): 219–234. Lebedeva EI, Shastny AT, Babenko AS. Model of toxic fibrosis in Wistar rats: morphologic and molecular genetic parameters of the transition point into cirrhosis. *Genes and Cells.* 2023; 18 (3): 219–234. <https://doi.org/10.23868/gc546031>.
 35. Alfaifi M, Eom YW, Newsome PN, Baik SK. Mesenchymal stromal cell therapy for liver diseases. *J Hepatol.* 2018; 68: 1272–1285. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.01.030>.
 36. Cai H, Guo H. Mesenchymal stem cells and their exocytotic vesicles. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (3): 2085. doi: 10.3390/ijms24032085.
 37. Wang X, Wang Y, Lu W, Qu J, Zhang Y, Ye J, Wang X et al. Effectiveness and mechanisms of mesenchymal stem cell therapy in preclinical animal models of hepatic fibrosis: a systematic review and meta-analysis. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024; 12: 1424253. doi: 10.3389/fbioe.2024.1424253.
 38. Driscoll J, Patel T. The mesenchymal stem cell secretome as an acellular regenerative therapy for liver disease. *J Gastroenterol.* 2019; 54: 763–773. <https://doi.org/10.1007/s00535-019-01599-1>.
 39. Adas G, Koc B, Adas M, Duruksu G, Subasi C, Kemik O et al. Effects of mesenchymal stem cells and VEGF on liver regeneration following major resection. *Langenbecks Arch Surg.* 2016; 401: 725–740. <https://doi.org/10.1007/s00423-016-1380-9>.
 40. Liu H, Wang X, Deng H, Huang H, Liu Y, Zhong Z et al. Integrated Transcriptome and Metabolomics to Reveal the Mechanism of Adipose Mesenchymal Stem Cells in Treating Liver Fibrosis. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (22): 16086. doi: 10.3390/ijms242216086.
 41. Lin F, Chen W, Zhou J, Zhu J, Yao Q, Feng B et al. Mesenchymal stem cells protect against ferroptosis via exosome-mediated stabilization of SLC7A11 in acute liver injury. *Cell Death Dis.* 2022; 13: 271. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04708-w>.
 42. Cheng Y, Wang B, Zhou H, Dang S, Jin M, Shi Y et al. Autophagy is required for maintenance of liver progenitor cell functionality. *Cell Physiol Biochem.* 2015; 36 (3): 1163–1174. <https://doi.org/10.1159/000430287>.
 43. Lin D, Chen H, Xiong J, Zhang J, Hu Z, Gao J et al. Mesenchymal stem cells exosomal let-7a-5p improve autophagic flux and alleviate liver injury in acute-on-chronic liver failure by promoting nuclear expression of TFEB. *Cell Death Dis.* 2022; 13: 865. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05303-9>.
 44. Zhang Z, Shang J, Yang Q, Dai Z, Liang Y, Lai C et al. Exosomes derived from human adipose mesenchymal stem cells ameliorate hepatic fibrosis by inhibiting PI3K/Akt/mTOR pathway and remodeling choline metabolism. *J Nanobiotechnology.* 2023; 21 (1): 29. doi: 10.1186/s12951-023-01788-4.
 45. Yao L, Hu X, Yuan M, Liu P, Zhang Q, Wang Z et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells alleviate liver cirrhosis through the Hippo/YAP/Id1 pathway and macrophage-dependent mechanism. *Int Immunopharmacol.* 2023; 123: 110456. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110456.
 46. Liu H, Huang H, Liu Y, Yang Y, Deng H, Wang X et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells inhibit hepatic stellate cells activation to alleviate liver fibrosis via Hip-

- po pathway. *Stem Cell Res Ther.* 2024; 15 (1): 378. doi: 10.1186/s13287-024-03988-7.
47. Zhang LT, Peng XB, Fang XQ, Li JF, Chen H, Mao XR. Human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit proliferation of hepatic stellate cells *in vitro*. *Int J Mol Med.* 2018; 41: 2545–52. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3500>.
 48. Gan L, Zheng L, Yao L, Lei L, Huang Y, Zeng Z, Fang N. Exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells improve liver fibrosis by regulating the miR-20a-5p/TGFBR2 axis to affect the p38 MAPK/NF-κB pathway. *Cytokine.* 2023; 172: 156386. doi: 10.1016/j.cyto.2023.156386.
 49. Zong R, Zheng Y, Yan Y, Sun W, Kong L, Huang Y et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes alleviate liver fibrosis by targeting Hedgehog/SMO signaling. *Hepatol Int.* 2024; 18 (6): 1781–1791. doi: 10.1007/s12072-024-10717-y.
 50. Basalova N, Sagaradze G, Arbatskiy M, Evtushenko E, Kulebyakin K, Grigorieva O et al. Secretome of mesenchymal stromal cells prevents myofibroblasts differentiation by transferring fibrosis-associated microRNAs within extracellular vesicles. *Cells.* 2020; 9: 1272. <https://doi.org/10.3390/cells9051272>.
 51. Liu P, Yao L, Hu X, Wang Z, Xiong Z, Jiang Y. Recent advances in the immunomodulation mechanism of mesenchymal stem cell therapy in liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol.* 2023; 38 (7): 1099–1106. doi: 10.1111/jgh.16247.
 52. Feng X, Feng B, Zhou J, Yang J, Pan Q, Yu J et al. Mesenchymal stem cells alleviate mouse liver fibrosis by inhibiting pathogenic function of intrahepatic B cells. *Hepatology.* 2024; 10.1097/HEP.0000000000000831.
 53. Liu K, Wang FS, Xu R. Neutrophils in liver diseases: pathogenesis and therapeutic targets. *Cell Mol Immunol.* 2021; 18: 38–44. doi: 10.1038/s41423-020-00560-0.
 54. Shi Y, Wang Y, Li Q, Liu K, Hou J, Shao C, Wang Y. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. *Nat Rev Nephrol.* 2018; 14 (8): 493–507. doi: 10.1038/s41581-018-0023-5.
 55. Yang H, Sun J, Li Y, Duan WM, Bi J, Qu T. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells suppress proliferation of PHA-activated lymphocytes *in vitro* by inducing CD4(+)CD25(high)CD45RA(+) regulatory T cell production and modulating cytokine secretion. *Cell Immunol.* 2016; 302: 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2016.01.002>.
 56. Wu HW, Chen HD, Chen YH, Mao XL, Feng YY, Li SW, Zhou XB. The effects of programmed cell death of mesenchymal stem cells on the development of liver fibrosis. *Stem Cells Int.* 2023; 11: 4586398. doi: 10.1155/2023/4586398.
 57. Zheng Q, Zhang S, Guo WZ, Li XK. The unique immunomodulatory properties of MSC-derived exosomes in organ transplantation. *Front Immunol.* 2021; 12: 659621. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.659621>.
 58. Elzainy A, El Sadik A, Altowayan WM. Comparison between the Regenerative and Therapeutic Impacts of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Adipose Mesenchymal Stem Cells Pre-Treated with Melatonin on Liver Fibrosis. *Biomolecules.* 2024; 14 (3): 297. doi: 10.3390/biom14030297.
 59. Ding F, Liu Y, Li J, Wei X, Zhao J, Liu X, Zhang L. TC14012 enhances the anti-fibrosis effects of UC-MSCs on the liver by reducing collagen accumulation and ameliorating inflammation. *Stem Cell Res Ther.* 2024; 15 (1): 44. doi: 10.1186/s13287-024-03648-w.
 60. Jin M, Yi X, Zhu X, Hu W, Wang S, Chen Q et al. Schisandrin B promotes hepatic differentiation from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *iScience.* 2024; 27 (2): 108912. doi: 10.1016/j.isci.2024.108912.
 61. Shams S, Mohsin S, Nasir GA, Khan M, Khan SN. Mesenchymal stem cells pretreated with HGF and FGF4 can reduce liver fibrosis in mice. *Stem Cells Int.* 2015; 2015: 747245. <https://doi.org/10.1155/2015/747245>.
 62. Mortezaee K, Khanlarkhani N, Sabbaghziarani F, Nekoonam S, Majidpoor J, Hosseini A et al. Preconditioning with melatonin improves therapeutic outcomes of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in targeting liver fibrosis induced by CCl₄. *Cell Tissue Res.* 2017; 369: 303–312. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2604-1>. (Retraction published *Cell Tissue Res.* 2025 Feb 17. doi: 10.1007/s00441-025-03959-1).
 63. Iqbal M, Shams S, Rafiq H, Khan M, Khan S, Sadique Khattak U et al. Combinatorial therapeutic potential of stem cells and benzimidazol derivatives for the reduction of liver fibrosis. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023; 16 (2): 306. doi: 10.3390/ph16020306.
 64. Fathy M, Okabe M, M Othman E, Saad Eldien HM, Yoshida T. Preconditioning of adipose-derived mesenchymal stem-like cells with eugenol potentiates their migration and proliferation *in vitro* and therapeutic abilities in rat hepatic fibrosis. *Molecules.* 2020; 25 (9): 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25092020>.
 65. Baig MT, Ghufran H, Mehmood A, Azam M, Humayun S, Riazuddin S. Vitamin E pretreated Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells attenuate CCl₄-induced hepatocyte injury *in vitro* and liver fibrosis *in vivo*. *Biochem Pharm.* 2021; 186: 114480. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114480>.
 66. Lai YJ, Sung YT, Lai YA, Chen LN, Chen TS, Chien CT. L-Theanine-treated adiposederived mesenchymal stem cells alleviate the cytotoxicity induced by N-nitrosodiethylamine in liver. *Tissue Eng Regen Med.* 2022; 19: 1207–1221. <https://doi.org/10.1007/s13770-022-00472-2>.
 67. Shivaramu S, Maiti SK, Banu SA, Kalaiselvan E, Sharun K, Mishra M et al. Synergistic hepatoprotective effects of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma in a rat model of bile duct ligation-induced liver cirrhosis. *Cells.* 2024; 13 (5): 404. doi: 10.3390/cells13050404.
 68. Amansyah F, Budu B, Achmad MH, Daud NMAS, Putra A, Massi MN et al. Secretome of Hypoxia-Preconditioned Mesenchymal Stem Cells Promotes Liver Regeneration and Anti-Fibrotic Effect in Liver Fibrosis Animal Model. *Pak J Biol Sci: PJBS.* 2024; 27 (1): 18–26. doi: 10.3923/pjbs.2024.18.26.

69. Xie Y, Yao J, Yan M, Lin Y, Wei J, Wang H et al. Pretreatment of UC-MSCs with IFN- α 2 improves treatment of liver fibrosis by recruiting neutrophils. *J Transl Med.* 2023; 21 (1): 832. doi: 10.1186/s12967-023-04732-0.
70. Liu C, Zhang YS, Chen F, Wu XY, Zhang BB, Wu ZD, Lei JX. Immunopathology in schistosomiasis is regulated by TLR2,4- and IFN-gamma-activated MSC through modulating Th1/Th2 responses. *Stem Cell Res Ther.* 2020; 11: 217. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01735-2>.
71. Xu Y, Wang XS, Zhou XL, Lu WM, Tang XK, Jin Y, Ye JS. Mesenchymal stem cell therapy for liver fibrosis need «partner»: Results based on a meta-analysis of preclinical studies. *World J Gastroenterol.* 2024; 30 (32): 3766–3782. doi: 10.3748/wjg.v30.i32.3766.
72. Moon SH, Lee CM, Park SH, Jin Nam M. Effects of hepatocyte growth factor gene-transfected mesenchymal stem cells on dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. *Growth Factors.* 2019; 37: 105–119. <https://doi.org/10.1080/08977194.2019.1652399>.
73. Lou G, Yang Y, Liu F, Ye B, Chen Z, Zheng M, Liu Y. MiR-122 modification enhances the therapeutic efficacy of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells against liver fibrosis. *J Cell Mol Med.* 2017; 21: 2963–2973. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13208>.
74. Choi JS, Jeong IS, Han JH, Cheon SH, Kim SW. IL-10-secreting human MSCs generated by TALEN gene editing ameliorate liver fibrosis through enhanced anti-fibrotic activity. *Biomater Sci.* 2019; 7: 1078–1087. <https://doi.org/10.1039/c8bm01347k>.
75. Zhang X, Hu MG, Pan K, Li CH, Liu R. 3D spheroid culture enhances the expression of antifibrotic factors in human adipose-derived MSCs and improves their therapeutic effects on hepatic fibrosis. *Stem Cells Int.* 2016; 2016: 4626073. <https://doi.org/10.1155/2016/4626073>.
76. Takahashi Y, Yuniartha R, Yamaza T, Sonoda S, Yamaza H, Kirino K et al. Therapeutic potential of spheroids of stem cells from human exfoliated deciduous teeth for chronic liver fibrosis and hemophilia A. *Pediatr Surg Int.* 2019; 35: 1379–1388. <https://doi.org/10.1007/s00383-019-04564-4>.
77. Lee S, Kim HS, Min BH, Kim BG, Kim SA, Nam H et al. Enhancement of antiinflammatory and immunomodulatory effects of adipose-derived human mesenchymal stem cells by making uniform spheroid on the new nanopatterned plates. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021; 552: 164–169. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.03.026>.
78. Li S, Fu X, Wang J, Yang H, Wang D, Dong X et al. Therapeutic efficacy and *in vivo* distribution of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell spheroids transplanted via B-Ultrasound-guided percutaneous portal vein puncture in rhesus monkey models of liver fibrosis. *Stem Cell Res Ther.* 2024; 15 (1): 315. doi: 10.1186/s13287-024-03934-7.
79. Shagidulin M, Onishchenko N, Sevastianov V, Krasheninnikov M, Lyundup A, Nikolskaya A et al. Experimental Correction and Treatment of Chronic Liver Failure Using Implantable Cell-Engineering Constructs of the Auxiliary Liver Based on a Bioactive Heterogeneous Biopolymer Hydrogel. *Gels.* 2023; 9 (6): 456. <https://doi.org/10.3390/gels9060456>.
80. Shagidulin M, Onishchenko N, Grechina A, Nikolskaya A, Krasheninnikov M, Lyundup A et al. Recombinant spidroin microgel as the base of cell-engineered constructs mediates liver regeneration in rat. *Polymers (Basel).* 2022; 14 (15): 3179. <https://doi.org/10.3390/polym14153179>.
81. Шагидуллин МЮ, Онищенко НА, Басок ЮБ, Григорьев АМ, Кириллова АД, Немец ЕА и др. Функциональная эффективность клеточно-инженерной конструкции печени на основе тканеспецифического матрикса (экспериментальная модель хронической печеночной недостаточности). *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2020; 22 (4): 89–97. Shagidulin MYu, Onishchenko NA, Basok YuB, Grigoriev AM, Kirillova AD, Nemets EA et al. Functional efficiency of cell-engineered liver constructs based on tissue-specific matrix (experimental model of chronic liver failure). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2020; 22 (4): 89–97. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-4-89-97>.
82. Itaba N, Noda I, Oka H, Kono Y, Okinaka K, Yokobata T et al. Hepatic cell sheets engineered from human mesenchymal stem cells with a single small molecule compound IC-2 ameliorate acute liver injury in mice. *Regen Ther.* 2018; 9: 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2018.07.001>.
83. Fukushima K, Itaba N, Kono Y, Okazaki S, Enokida S, Kuranobu N et al. Secreted matrix metalloprotease-14 is a predictor for antifibrotic effect of IC-2-engineered mesenchymal stem cell sheets on liver fibrosis in mice. *Regen Ther.* 2021; 18: 292–301. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2021.08.004>.
84. Itaba N, Kono Y, Watanabe K, Yokobata T, Oka H, Osaki M et al. Reversal of established liver fibrosis by IC-2-engineered mesenchymal stem cell sheets. *Sci Rep.* 2019; 9: 6841. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43298-0>.
85. Lozinsky VI, Kulakova VK, Grigoriev AM, Podorozhko EA, Kirsanova LA, Kirillova AD et al. Cryostructuring of Polymeric Systems: 63. Synthesis of Two Chemically Tanned Gelatin-Based Cryostructurates and Evaluation of Their Potential as Scaffolds for Culturing of Mammalian Cells. *Gels.* 2022; 8 (11): 695. doi: 10.3390/gels8110695.
86. Basok YuB, Grigoriev AM, Lozinsky VI, Kirsanova LA, Kulakova VK, Podorozhko EA et al. Cryogenically Structured Extracellular Matrix Mimetic Based on a Concentrated Collagen-Containing Solution. *Inorg Mater Appl Res.* 2024; 15: 358–366. <https://doi.org/10.1134/S2075113324020096>.

Статья поступила в редакцию 11.04.2025 г.
The article was submitted to the journal on 11.04.2025