

© Коллектив авторов, 2022

УДК 616.01/-099

Маклакова И.Ю.<sup>1,2</sup>, Гребнев Д.Ю.<sup>1,2</sup>, Базарный В.В.<sup>1</sup>

## Активация репаративной регенерации печени с помощью стволовых клеток

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,

620028, Екатеринбург, ул. Репина, д. 3;

<sup>2</sup>ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,

620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 22 А

Несмотря на развитие современной медицины, вопросы восстановления структуры и функции печени после ее повреждения продолжают оставаться актуальными. **Цель** исследования – изучение механизмов влияния разных комбинаций стволовых клеток на активацию репаративной регенерации печени после частичной гепатэктомии.

**Методика.** Эксперименты проведены на зрелых белых аутбредных мышах-самцах. Выделение и культивирование мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК), выделение ГСК осуществляли из хориона плаценты мышей-самок возраста 3–4 мес. Звездчатые клетки печени (ЗКП) выделяли из печени 15 мышей в возрасте 6–8 мес. В исследовании выделили 2 опытные и 1 контрольную группы. Животным опытных групп осуществлялось введение в латеральную хвостовую вену ММСК в количестве 120 тыс кл/мышь, ГСК в количестве 10 тыс кл/мышь, ЗКП в дозе 270 тыс кл/мышь. Клетки суспендировали в 0,2 мл 0,9 % раствора NaCl. Животным контрольной группы вводили 0,2 мл 0,9% раствора NaCl. Введение клеток осуществлялось в физиологических условиях и через 1 ч после частичной гепатэктомии. Была также выделена группа сравнения – животные без частичной гепатэктомии и без введения клеток. Для оценки морфофункционального состояния печени исследовали биохимические показатели крови и морфометрические параметры печени через 1, 3 и 7 сут после введения клеток. С целью оценки выраженности репаративных процессов в клетках печени производился анализ количества Поли-АДФ-рибозаполимера, который является продуктом реакции Поли-АДФ-рибозилирования. В сыворотке крови определяли фактор роста гепатоцитов (HGF).

**Результаты.** В результате исследования получено, что проведение сочетанной трансплантации ММСК и ГСК, а также ММСК и ЗКП сопровождается активацией митотической активности гепатоцитов, угнетением запрограммированной гибели гепатоцитов, восстановлением морфометрических показателей печени, нормализацией биохимических показателей крови. При этом введение ММСК и ЗКП показало более выраженный эффект на восстановление морфофункционального состояния печени по сравнению с трансплантацией ММСК и ГСК.

**Заключение.** Для коррекции морфофункционального состояния печени после частичной гепатэктомии целесообразно использовать сочетанную трансплантацию мультипотентных мезенхимальных стромальных и звездчатых клеток печени. Одним из ключевых механизмов действия мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток является активация системы репарации ДНК, обеспечивающая снижение запрограммированной клеточной гибели, уменьшение уровня патологических митозов.

**Ключевые слова:** сочетанная трансплантация; частичная гепатэктомия; мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки; звездчатые клетки печени; репарация ДНК

**Для цитирования:** Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю., Базарный В.В. Активация репаративной регенерации печени с помощью стволовых клеток. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(3): 101-112.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.03.101-112

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю., Базарный В.В.; сбор и обработка материала – Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю.; подготовка иллюстративного материала – Базарный В.В., Маклакова И.Ю.; статистическая обработка – Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю.; написание текста – Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю.; редактирование – Гребнев Д.Ю., Базарный В.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

**Для корреспонденции:** Маклакова Ирина Юрьевна, e-mail: makliu@mail.ru

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке госзадания № НИОКТР 121032500021-1.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 18.04.2022

Принята к печати 14.06.2022

Опубликована 12.09.2022

Maklakova I.Yu.<sup>1,2</sup>, Grebnev D.Yu.<sup>1,2</sup>, Bazarniy V.V.<sup>1</sup>**Activation of reparative liver regeneration using stem cells**<sup>1</sup>Ural State Medical University,  
Repina St. 3, Ekaterinburg 620028, Russian Federation;<sup>2</sup>Institute of Medical Cell Technologies,  
Karla Marksa St., 22A, Ekaterinburg 620026, Russian Federation

Despite the advances of modern medicine, restoring the structure and function of the liver after its damage continues to be relevant. **Aim:** This study investigated mechanisms that influence different combinations of stem cells for activating reparative liver regeneration after partial hepatectomy.

**Methods.** Experiments were performed on mature, white, outbred male mice. Multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) were isolated and cultured and hematopoietic stem cells (HPSCs) were isolated from the chorion of the placenta of female mice aged 3-4 mos. Hepatic stellate cells (HSC) were isolated from the liver of 15 mice aged 6-8 mos. Two experimental groups and one control group were studied. MMSC,  $12 \times 10^4$  cells; HPSC,  $10^4$  cells; and HSC,  $27 \times 10^4$  cells were injected into the lateral caudal vein of each experimental mouse. The cells were suspended in 0.2 ml of 0.9% NaCl solution. Control group animals were injected with 0.2 ml of 0.9% NaCl solution. The cells were injected under physiological conditions and 1 hr after partial hepatectomy. A comparison group was also identified; it consisted of animals without partial hepatectomy and without the injection of cells. To assess the morpho-functional state of the liver, blood biochemistry and liver morphometry were studied at 1, 3, and 7 days after the cell injection. To assess the intensity of reparative processes in liver cells, the amount of poly(ADP-ribose) polymer, a product of poly-ADP ribosylation, was measured. Hepatocyte growth factor (HGF) was determined in the blood serum.

**Results.** The combined transplantation of MMSCs and HPSCs, as well as MMSCs and HSCs, was associated with activation of the mitotic activity of hepatocytes, inhibition of programmed hepatocyte death, restoration of liver morphometric parameters, and normalization of blood biochemical parameters. At the same time, the administration of MMSCs and HSCs showed a more pronounced effect on the restoration of the morpho-functional state of the liver compared with the transplantation of MMSCs and HPSCs.

**Conclusion.** To correct the morpho-functional state of the liver after partial hepatectomy, combined transplantation of MMSC and HSCs is advisable. One of the key mechanisms of the action of MMSCs is the activation of the DNA repair system, which results in a decrease in programmed cell death, i.e., a decrease in the rate of pathological mitoses.

**Keywords:** combined transplantation; partial hepatectomy; multipotent mesenchymal stromal cells; hepatic stellate cells; DNA repair

**For citation:** Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu., Bazarniy V.V. Activation of reparative liver regeneration using stem cells. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66(3): 101-112. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.03.101-112

**Author's contribution:** concept and design of the study – Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu., Bazarniy V.V.; collection and processing of material – Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu.; preparation of illustrative material – Maklakova I.Yu., Bazarniy V.V.; statistical processing of the material – Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu.; text writing – Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu.; editing – Grebnev D.Yu., Bazarniy V.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

**For correspondence:** **Maklakova Irina Yu.**, associate Professor of pathological physiology of the USMU is conducted by the Ministry of health of Russia, senior researcher "Institute of medical cell technologies", laboratory of anti-aging technology, e-mail: makliu@mail.ru

**Information about the authors:**Maklakova I.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-6895-7947>Grebnev D.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-5698-8404>Bazarniy V.V., <https://orcid.org/0000-0003-0966-9571>

**Financing.** The study was carried out with the financial support of the state task registration number 121032500021-1.

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest.

Received 18.04.2022

Accepted 14.06.2022

Published 12.09.2022

**Введение**

Проведение обширной резекции печени сопряжено с высоким риском развития послеоперационной печеночной недостаточности [1, 2], в значительном проценте случаев приводящей к смерти [3]. Регенера-

ция печени после частичной гепатэктомии реализуется путем сложных взаимодействий между паренхиматозными и непаренхиматозными клетками печени [4–6]. Регенеративный потенциал печени при ее резекции может быть усилен за счет миграции клеток костного мозга, что обусловлено секретлируемыми цитокинами

и факторами роста после повреждения органа. Механизмы привлечения как аутологических, так и аллогенных стволовых клеток, влияние их на регенерацию печени остаются в значительной степени не изученными. В последние годы возможность использования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) и гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для активации репаративной регенерации печени привлекает внимание многих научных групп [7–9]. Установлено, что ММСК способны вырабатывать противовоспалительные факторы, факторы роста, обеспечивающие повышение пролиферативной активности гепатоцитов [10]. Доказана способность ГСК посредством слияния с гепатоцитами (fusion affect) активировать репаративную регенерацию печени [11].

Известно, что стволовые клетки, выделенные из фетальных тканей, обладают большим пролиферативным потенциалом [12, 13]. В этом отношении наше внимание привлекла возможность выделения этих клеток из хориона плаценты. Обращает на себя внимание также возможность получения из данного источника гемопоэтических стволовых клеток в большем количестве, чем их можно получить из костного мозга [14].

В последние годы накапливается научный, экспериментальный материал, свидетельствующий о важной роли звездчатых клеток печени (ЗКП) (клетки печени Ито) в регенерации печени [15, 16]. Эти клетки вырабатывают различные митогены для гепатоцитов, синтезируют коллагены IV, VI, XIV типов, гликопротеины, протеогликаны, матриксные металлопротеиназы [17]. В последние годы получены данные о способности звездчатых клеток печени дифференцироваться в гепатоциты [18]. Есть данные о выработке ММСК хемоаттрактанта для ГСК и звездчатых клеток печени [19].

Учитывая биологические особенности взаимодействия ММСК с ГСК, а также с ЗКП представляется перспективным изучение влияния комбинаций этих клеток на морфофункциональное состояние печени в условиях ее повреждения.

### Методика

В проведении экспериментальных исследований руководствовались Приказом Минздрава России №199 от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», в соответствии с регламентом декларации ЕС от 22 сентября 2010 г. об использовании лабораторных животных в научных целях. Протокол исследования одобрен этической комиссией «Института медицинских клеточных технологий»

Эксперименты выполнены на зрелых (6–8 мес) белых аутбредных мышцах-самцах. Животные содержа-

лись в стандартных условиях вивария. ЗПК получали из печени 6–8-месячных мышей. Выделение, культивирование ММСК и выделение ГСК осуществлялось из хориона плаценты мышей-самок в возрасте 3–4 мес, срок гестации – 18 дней. Клетки суспендировали в 0,2 мл 0,9 % раствора NaCl. Животным опытных групп вводили в латеральную хвостовую вену ММСК в количестве 120 тыс. кл./мышь, ГСК в количестве 10 тыс. кл./мышь, ЗКП в дозе 270 тыс. кл./мышь. Введение клеток осуществлялось в физиологических условиях (без моделирования патологии печени) и через 1 ч после частичной гепатэктомии. Мышам группы контроля производилось введение 0,2 мл 0,9% раствора NaCl. Была также выделена группа сравнения – животные без моделирования патологического воздействия и без введения клеток. В каждой группе было по 7 животных (табл. 1). Оценку биохимических показателей крови и морфометрических показателей печени проводили через 1, 3 и 7 сут после введения клеток.

Выбор сроков выведения из эксперимента (1, 3 и 7 сут после частичной гепатэктомии) коррелирует с пиками синтетической и митотической активности клеток печени. В процессе регенерации печени после частичной гепатэктомии выделяют 2 фазы регенерации – предмитотическую и пролиферативную. Предмитотическая фаза может быть подразделена на раннюю (переход клеток из  $G_0$  в  $G_1$  стадию клеточного цикла и позднюю – начало репликации ДНК ( $G_1 - S$ )). В печени мышей ранней стадии соответствуют первые 10–12 ч после операции, поздней 12–24 ч после частичной гепатэктомии. Поздняя стадия регенерации печени характеризуется наибольшей интенсивностью биосинтетических процессов. В процесс деления постепенно вступают почти все сохранившиеся после резекции клетки и к концу 3-х сут в состоянии пролиферации оказывается 90–96,6 % гепатоцитов. После 7-х сут снижается уровень проростовых сигналов, происходит возобновление ингибиторной сигнализации, восстанавливается масса печени и восстанавливается гомеостаз.

Выделение культуры ММСК осуществлялось согласно модифицированному методу А.С. Тепляшина и соавт. [20]. Культивирование клеток проводили в условиях  $CO_2$  инкубатора, поддерживали температуру 37 °С и увлажненную атмосферу с содержанием углекислого газа 5 %. Смена питательной среды осуществлялась каждые 3–4 сут. ММСК фенотипировались методом проточной цитометрии на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США). Для проведения исследования использовали моноклональные антитела, конъюгированные с флуорохромами (Weston Dickinson, США). Производили оценку содержа-

Таблица 1/Table 1

Распределение мышей по сериям экспериментов

Distribution of mice by series of experiments

Условия эксперимента Experimental conditions	Клетки Cells	Количество клеток Cells number	Время выведения мышей из эксперимента Time to get the mice out of the experiment		
			1 сут./day	3 сут./day	7 сут./day
Физиологические условия Physiological conditions	ММСК+ГСК опытная группа/ experimental group	120 тыс. кл./мышь + 10 тыс.кл./мышь в 0,2 мл 0,9 % р-ра NaCl 120 kl./mouse + 10 kl./mouse in 0,2 ml 0.9% NaCl solution	n=7	n=7	n=7
	ММСК+ЗКП опытная группа/ experimental group	120 тыс. кл./мышь + 270 тыс. кл./мышь в 0,2 мл 0,9 % р-ра NaCl 120 kl./mouse + 270 kl./mouse in 0,2 ml 0.9% NaCl solution	n=7	n=7	n=7
	0,9% р-р NaCl группа сравнения/ comparison group	0,2 мл	n=7	n=7	n=7
Частичная гепатэктомия Partial hepatectomy	ММСК+ГСК опытная группа/ experimental group	120 тыс. кл./мышь + 10 тыс.кл./мышь в 0,2 мл 0,9 % р-ра NaCl 120 kl./mouse + 10 kl./mouse in 0,2 ml 0.9% NaCl solution	n=7	n=7	n=7
	ММСК+ЗКП опытная группа/ experimental group	120 тыс. кл./мышь + 270 тыс. кл./мышь в 0,2 мл 0,9 % р-ра NaCl 120 kl./mouse + 270 kl./mouse in 0,2 ml 0.9% NaCl solution	n=7	n=7	n=7
	0,9% р-р NaCl контрольная группа/control group	0,2 мл	n=7	n=7	n=7

**Примечание.** ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (MMSCs – multipotent mesenchymal stromal cells). ГСК – гемопоэтические стволовые клетки (HSCs – hematopoietic stem cells) ЗКП звездчатые клетки печени (Hepatic stellate cells).

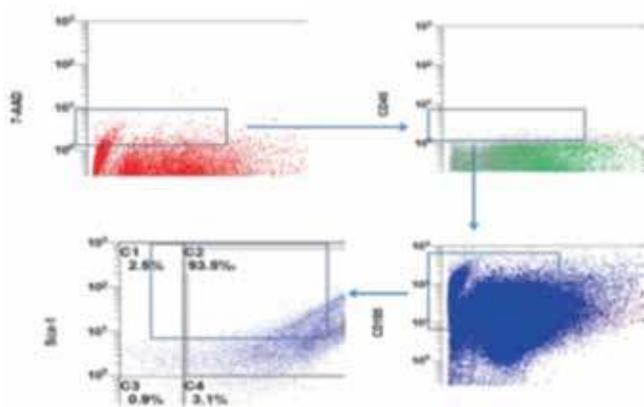
ния ММСК с иммунофенотипом CD29+, CD105+, Sca-1+, CD45- в суспензии трансплантируемых клеток (рис. 1). Для этого использовали набор Mouse Mesenchymal Stem Cell Multi-Color Flow Cytometry Kit (Bio-Techne, США). Жизнеспособность клеток определяли с помощью 7-AAD. ММСК с фенотипом 7AAD-CD45-CD105+Sca1+CD29+ в суспензии трансплантируемых клеток составило 93,5 % (рис. 1).

Выделение гемопоэтических стволовых клеток проводили методом позитивной иммуномагнитной сепарации по антигенам CD 117 и SCA-1 (Stemcell technology, Канада).

ГСК фенотипировались методом проточной цитометрии на проточном цитометре Beckman Coulter Navios (США). Для проведения анализа использо-

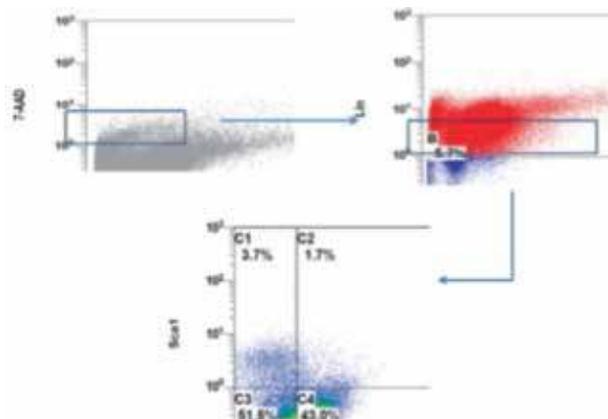
вали моноклональные антитела, конъюгированные с флуорохромами (Becton Dickinson, США). Оценивали содержание ГСК с иммунофенотипом 7-AAD, Lin-, Sca1+, CD117+ в суспензии клеток до и после проведения иммуномагнитной сепарации. В результате проведенных исследований показано, что до проведения иммуномагнитной сепарации количество жизнеспособных клеток с фенотипом 7AAD-, Lin-, Sca1+, CD117+ составляло 1,7% (рис. 2), после проведения иммуномагнитной сепарации – 95,6% (рис. 3).

Выделение ЗКП осуществлялось методом коллагеназно-пропазовой перфузии печени с последующим разделением клеток в градиенте плотности гистоденза (Sigma-Aldrich).



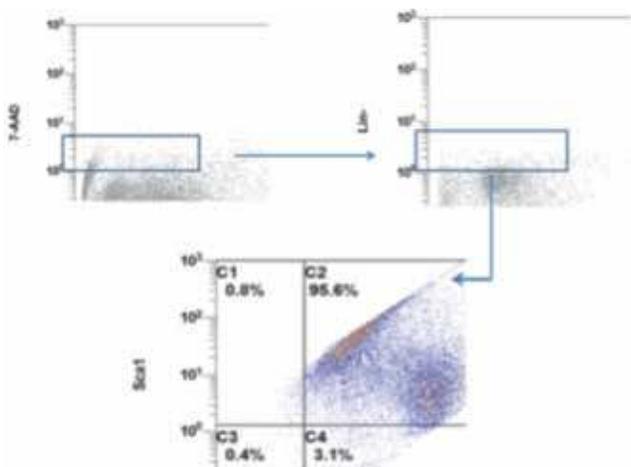
**Рис. 1.** Последовательность гейтирования для получения ММСК с фенотипом CD45-, CD105+, Sca1+, CD29+.

**Fig. 1.** Sequence of gating to obtain MMSCs with CD45-, CD105+, Sca1+, CD29+ phenotype.



**Рис. 2.** Количество Sca-1+ клеток до проведения иммуномагнитной сепарации.

**Fig. 2.** Number of Sca-1+ cells before immunomagnetic separation.



**Рис. 3.** Содержание CD 117+, Sca-1+, 7-AAD-, Lin- клеток после иммуномагнитной сепарации.

**Fig. 3.** Content of CD 117+, Sca-1+, 7-AAD-, Lin- cells after immunomagnetic separation.

Частичная гепатэктомия проводилась по методу С. Mitchell и Н. Willenbring [21]. Для анестезии использовали «Золетил» (10 мг/кг) (Virbac, Франция).

Изучали биохимические показатели крови на 1-е, 3-и и 7-е сут после введения клеток. Исследование проводили на иммуноферментном и биохимическом анализаторе Chem Well 2910 (Combi, США). Определяли: альбумин (колориметрический метод с бромкрезоловым зеленым), общий белок (биуретовая реакция), мочевины (уреазо-салицилат-гипохлоритный метод, реакция Бертлоа), глюкозу (глюкозоксидазный метод), общий билирубин (Метод Йендрашека-Грофа), активность аспартата-

минотрансферазы (АСТ или АсАТ) (L-аспартат:2-оксоглутарат-аминотрансфераза, КФ 2.6.1.1.), аланинаминотрансферазы (АЛТ или АлАТ), (L-аланин:2-оксоглутарат-аминотрансфераза, КФ 2.6.1.2), щелочной фосфатазы (ЩФ, КФ 3.1.3.1.). Определение активности ферментов осуществлялось кинетическими методами. При определении биохимических показателей использовались тест-системы «Ольвекс Диагностикум», Россия. Фибриноген определяли хронометрическим методом по Клаусу на анализаторе гемостаза АПГ2-02-П с использованием реагентов «Технология стандарт» (Россия).

Морфометрию структур печени осуществляли с помощью программы анализа изображений (Biovision, Россия). С помощью микроскопа (OLYMPUS BX51, Япония) проводили микротомографию случайных полей зрения при разных увеличениях: ×100, ×200, ×400, ×1000. Исследовали не менее 10 полей зрения в каждом препарате с помощью камеры OLYMPUS XC30. Оценивали следующие параметры:

1. Площадь гепатоцита, мкм<sup>2</sup>
2. Площадь цитоплазмы гепатоцита, мкм<sup>2</sup>
3. Площадь ядра гепатоцита, мкм<sup>2</sup>
4. Ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ)  
Ядерно-цитоплазматический индекс рассчитывали по формуле:

$$\text{ЯЦИ} = \frac{\text{Площадь ядра}}{\text{Площадь гепатоцита} - \text{площадь ядра}}$$

5. Количество гепатоцитов на 1 мм<sup>2</sup>
6. Количество двуядерных клеток, кл/мм<sup>2</sup>
7. Митотический индекс (МИ) гепатоцитов, ‰.

(Митозы считали на 6000 клеток для каждого животного на гистологических препаратах печени, окрашенных гематоксилином-эозином.)

8. Апоптотический индекс (АИ), выраженный в промилле.

Интенсивность апоптоза гепатоцитов определяли с помощью формулы для подсчета апоптотического индекса:

$$AI = \frac{\text{Количество гепатоцитов в состоянии апоптоза}}{1000 \text{ подсчитанных гепатоцитов}} * 1000 \text{ ‰}$$

Постановка микроядерного теста проводилась по методу Колмаковой Т.С. [22].

С целью оценки выраженности репаративных процессов в клетках печени производилась оценка уровня Поли-АДФ-рибозилирования по методу Kunzmann A., Lui D, Annett K в клетках печени с использованием первичных (Anti-Poly (ADP-Ribose) Polymer antibody, Abcam) и вторичных антител (Rabbit Anti-Chicken IgY H&L (FITC), Abcam) методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре Beckman Coulter [23].

С помощью набора HGF Mouse ELISA (Abcam) методом иммуноферментного анализа осуществлялось количественное измерение HGF в сыворотке крови.

Статистический анализ проводили с помощью программного пакета SPSS Statistics (версия 17.0). Полученные данные представляли в виде среднего арифметического значения (M) и стандартной ошибки среднего (SD). Нормальность распределения значений выборок анализировали с использованием теста Шапиро-Уилка. При условии нормального распределения различия показателей групп оценку проводили по Т-критерию Стьюдента с учетом поправки Бонферрони, в противном случае – по U-критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

**Морфометрические параметры печени при сочетанных трансплантациях животным с частичной гепатэктомией.** Проведение сочетанных трансплантаций ММСК с ГСК, а также ММСК и ЗКП мышам в физиологических условиях (без повреждения печени) не привело к изменениям морфофункционального состояния печени. Также не произошло изменения числа гепатоцитов с микроядрами. Это свидетельствует о том, что введение ММСК не влияет на уровень патологических митозов в гепатоцитах. Установлено, что трансплантация ММСК не изменяет запрограммированную клеточную гибель и активность фермен-

тов репарации ДНК семейства PARP. Полученные данные можно объяснить тем, что, несмотря на высокую функциональную активность печени, митотическая активность гепатоцитов в физиологических условиях ограничена. Поэтому введение ММСК не вызывает изменений морфофункционального состояния интактной печени.

Проведение сочетанной трансплантации ММСК и ГСК животным с частичной гепатэктомией не сопровождалось изменением морфометрических показателей печени на 1-е сут после введения клеток. В то же время на фоне сочетанной трансплантации ММСК и ЗКП выявлено уменьшение запрограммированной клеточной гибели по сравнению с данными контрольной группы (**табл. 2**).

На 3-и сут после проведения котрансплантации ММСК и ГСК животным с частичной гепатэктомией при анализе морфометрических показателей печени выявлено снижение апоптотического индекса. В группе животных, которым вводили ММСК и ЗКП обнаружено увеличение массы печени по сравнению с контрольной группой. Восстановлению массы способствовало повышение митотической активности гепатоцитов. Так же как и на 1-е сут отмечается снижение запрограммированной клеточной гибели. Кроме того, сочетанная трансплантация ММСК и ЗКП способствовала повышению количества двуядерных гепатоцитов, увеличению площади ядра гепатоцитов, что привело к повышению ЯЦИ (**табл. 3**).

На 7-е сут после сочетанных трансплантаций животным с частичной гепатэктомией в обеих опытных группах отмечено увеличение массы печени за счет активации деления клеток и снижения выраженности апоптоза. Обнаружено увеличение количества двуядерных клеток, повышение площади ядра гепатоцитов, что привело к возрастанию ЯЦИ. При оценке количества клеток с микроядрами выявлено снижение их числа при котрансплантации. Показано, что котрансплантация данных видов клеток способствовала повышению активности ферментов репарации ДНК (**табл. 4**).

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что сочетанная трансплантация ММСК и ЗКП животным с частичной гепатэктомией способствует более раннему восстановлению морфофункционального состояния печени по сравнению с введением ММСК и ГСК. Увеличение массы печени отмечается уже на 3-и сут после проведения котрансплантации ММСК и ЗКП, в то время как при введении ММСК и ГСК восстановление массы органа отмечалось лишь на 7-е сут. В обеих опытных

Таблица 2/ Table 2

**Морфометрическая характеристика репаративных процессов в печени мышей на 1-е сутки после частичной гепатэктомии****Morphometric characteristics of reparative processes in the liver of mice on the 1st day after partial hepatectomy**

Показатели Indicators	NaCl контрольная группа/ control group	ММСК+ГСК	ММСК+ЗКП
Масса печени, г/Hepatic mass	0,64±0,05*	0,67±0,06*	0,70±0,07*
Апоптотический индекс, ‰ / Apoptotic index, ‰	0,90±0,06*	0,83±0,08*	0,67±0,07* **
Количество гепатоцитов с микроядрами, ‰ / Number of hepatocytes with micronuclei, ‰	2,23±0,21	2,17±0,18	2,27±2,21
Митотический индекс, ‰/Mitotic index, ‰	0,52±0,03	0,50±0,05	0,52±0,03
Количество гепатоцитов на 1 мкм <sup>2</sup> /Number of hepatocytes per 1 μm <sup>2</sup>	1192,0±89,43*	1214,43±110,94*	1151,29±108,24*
Площадь гепатоцита (мкм <sup>2</sup> )/Hepatocyte area (μm <sup>2</sup> )	340,20±24,43*	353,14±34,98*	346,43±26,78
Площадь цитоплазмы гепатоцита, (мкм <sup>2</sup> )/Hepatocyte cytoplasm area (μm <sup>2</sup> )	258,56±17,02*	274,34±27,09*	261,17±28,97
Площадь ядра гепатоцита (мкм <sup>2</sup> )/ Hepatocyte nucleus area (μm <sup>2</sup> )	81,64±7,45*	78,80±7,89*	85,26±6,22
Ядерно-цитоплазматический индекс/ Nuclear-cytoplasmic index	0,32±0,01*	0,29±0,01*	0,33±0,06
Количество двуядерных гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup> / Number of bicore hepatocytes per 1 mm <sup>2</sup>	334,31±12,30*	339,43±14,94*	345,14±11,59

**Примечание.**  $p < 0,05$  \* с группой сравнения;  $p < 0,05$  \*\* с контрольной группой. Остальные обозначения как в таблице 1.

**Note.**  $p < 0,05$  \* with the comparison group.  $p < 0,05$  \*\* with control group. The other designations are as in Table 1.

Таблица 3/ Table 3

**Морфометрическая характеристика репаративных процессов в печени мышей на 3-и сутки после частичной гепатэктомии****Morphometric characteristics of reparative processes in the liver of mice on the 3<sup>rd</sup> day after partial hepatectomy**

Показатели Indicators	NaCl (контрольная группа)	ММСК+ГСК	ММСК+ЗКП
Масса печени, г/Hepatic mass	1,04±0,09*	1,12±0,12*	1,24±0,10* **
Апоптотический индекс, ‰/ Apoptotic index, ‰	2,13±0,20*	1,59±0,13* **	1,54±0,15* **
Количество гепатоцитов с микроядрами, ‰ / Number of hepatocytes with micronuclei, ‰	3,37±0,26*	3,10±0,23*	2,97±0,20*
Митотический индекс, ‰/ Mitotic index, ‰	8,1±0,60 *	8,2±0,49 *	10,03±0,75* **
Количество гепатоцитов на 1 мкм <sup>2</sup> / Number of hepatocytes per 1 μm <sup>2</sup>	1206,71±91,96*	1146,29±106,33*	1160,0±113,14*
Площадь гепатоцита (мкм <sup>2</sup> )/Hepatocyte area (μm <sup>2</sup> )	331,81±24,02 *	338,0±20,57*	333,43±18,20*
Площадь цитоплазмы гепатоцита, (мкм <sup>2</sup> )/ Hepatocyte cytoplasm area (μm <sup>2</sup> )	243,64±19,25	254,0±12,29	249,14±9,84
Площадь ядра гепатоцита (мкм <sup>2</sup> )/ Hepatocyte nucleus area (μm <sup>2</sup> )	67,13±7,01 *	84,0±8,29* **	84,29±8,61* **
Ядерно-цитоплазматический индекс/ Nuclear-cytoplasmic index	0,27±0,01*	0,33±0,02* **	0,34±0,02* **
Количество двуядерных гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup> / Number of bicore hepatocytes per 1 mm <sup>2</sup>	380,97±10,15 *	473,14±23,55* **	484,0±35,71* **

**Примечание.**  $p < 0,05$  \* с группой сравнения;  $p < 0,05$  \*\* с контрольной группой. Остальные обозначения как в таблице 1.

**Note.**  $p < 0,05$  \* with the comparison group;  $p < 0,05$  \*\* with control group. The other designations are as in Table 1.

Таблица 4/ Table 4

**Морфофункциональная характеристика репаративных процессов в печени мышей на 7-е сутки после частичной гепатэктомии**  
**Morphometric characteristics of reparative processes in the liver of mice on the 7<sup>st</sup> day after partial hepatectomy**

Показатели Indicators	Значение (Value)		
	NaCl	ММСК+ГСК	ММСК+ЗКП
Масса печени, г/Hepatic mass	1,15±0,09*	1,53±0,12**	1,48±0,09**
Апоптотический индекс, %о / Apoptotic index, %о	1,25±0,09*	0,92±0,09* **	0,89±0,08* **
Количество гепатоцитов с микроядрами, %о / Number of hepatocytes with micronuclei, %о	2,77±0,23*	2,10±0,17* **	2,14±0,18**
Митотический индекс, %о / Mitotic index, %о	4,51±0,47*	5,74±0,49* **	5,80±0,37* **
Активность ферментов семейства PARP в клетках печени, MFI/PARP enzyme activity in liver cells, MFI	59,3±5,2*	82,4±7,8* **	86,3±8,06* **
Количество гепатоцитов с микроядрами, %о / Number of hepatocytes with micronuclei, %о	1427,71±116,98	1330,57±103,06	1354,0±138,0
Площадь гепатоцита (мкм <sup>2</sup> )/Hepatocyte area (μm <sup>2</sup> )	286,41±22,44	289±23,63	292,57±20,94
Площадь цитоплазмы гепатоцита, (мкм <sup>2</sup> )/ Hepatocyte cytoplasm area (μm <sup>2</sup> )	223,03±17,97	211,36±17,52	212,21±13,88
Площадь ядра гепатоцита (мкм <sup>2</sup> )/Hepatocyte nucleus area (μm <sup>2</sup> )	63,39±5,12*	78,07±6,32* **	80,36±7,08* **
Ядерно-цитоплазматический индекс/Nuclear-cytoplasmic index	0,29±0,02*	0,37±0,02* **	0,38±0,02* **
Количество двуядерных гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup> / Number of bicore hepatocytes per 1 mm <sup>2</sup> )	320,77±10,64*	392,43±20,94* **	404,71±27,47* **

**Примечание.** *p*<0,05 \* с группой сравнения; *p*<0,05 \*\* с контрольной группой. Остальные обозначения как в таблице 1.  
**Note.** *p*<0,05 \* with the comparison group; *p*<0,05 \*\* with control group. The other designations are as in Table 1.

группах отмечено повышение активности ферментов, участвующих в репарации ДНК. Эти изменения нашли свое отражение в снижении выраженности апоптоза и уменьшении количества гепатоцитов с микроядрами.

**Биохимические показатели крови животных разного возраста после частичной гепатэктомии на фоне введения клеток.** При изучении биохимических показателей крови на 1-е сут после резекции печени на фоне сочетанной трансплантации ММСК и ЗКП отмечено снижение активности АСТ на 24,7%, АЛТ на 25,5%, щелочной фосфатазы на 23,3%. Проведение сочетанной трансплантации ММСК и ГСК животным с частичной гепатэктомией не сопровождалось статистически значимыми изменениями биохимических показателей крови на 1-е сут после операции (табл. 5).

На 3-и сут после проведения частичной гепатэктомии получен эффект от введения клеток в обеих опытных группах – имело место снижение активности АСТ, АЛТ, ЩФ. Введение ММСК и ЗКП также сопровождалось повышением уровня мочевины (табл. 6).

На 7-е сут после введения клеток в обеих опытных группах выявлено снижение активности ферментов: АСТ, АЛТ, ЩФ, отмечено повышение уровня глюкозы. Во второй опытной группе в отличие от первой выявлено повышение уровня общего белка, альбумина (табл. 7).

Проведенные исследования показали, что сочетанная трансплантация ММСК и ГСК животным с частичной гепатэктомией приводит к снижению активности цитолитических ферментов (АСТ, АЛТ), ферментов холестаза (ЩФ), восстановлению уровня мочевины, способствует повышению уровня глюкозы.

С целью выяснения механизмов активации митотической активности гепатоцитов после введения стволовых клеток проведены исследования по определению содержания фактора роста гепатоцитов (HGF) в сыворотке крови. Выявлено увеличение уровня HGF у животных, которым была проведена трансплантация клеток (табл. 8).

**Обсуждение**

Проведенные исследования с использованием разных сочетаний трансплантируемых клеток позво-

**Биохимические показатели крови на 1-е сутки после частичной гепатэктомии****Biochemical blood values on the 1<sup>st</sup> day after partial hepatectomy**

Показатели Indicators		Значение (Value )		
		NaCl	ММСК+ГСК	ММСК+ЗКП
Показатели белкового обмена/ Protein metabolism indicators	общий белок (г/л) total protein (g/l)	51,29±4,81*	54,71±4,78*	53,71±4,73*
	альбумин (г/л) albumin (g/l)	20,54±1,89*	22,21±1,93*	22,74±2,24*
	мочевина (ммоль/л) urea ( mmol/l)	3,79±0,41*	3,99±0,27*	4,11±0,36*
Показатели цитолиза/ Cytolysis indicators	АСТ (Ед/л)/ aspartate aminotransferase (U/l)	416,79±29,76*	403,80±37,29*	313,84±21,44* **
	АЛТ(Ед/л)/ alanine aminotransferase (U/L)	296,91±22,64*	312,93±36,62*	221,26±20,11* **
Показатель холестаза/ Cholestasis index	щелочная фосфатаза (Ед/л) / alkaline phosphatase (U/L)	136,10±4,66*	142,79±14,36*	104,43±9,78***
Уровень глюкозы (ммоль/л)/ Glucose level (mmol/l)		4,01±0,53*	4,26±0,49*	4,37±0,40*
Общий билирубин, (мкмоль/л) Total bilirubin, (μmol/L)		19,84±2,85*	20,49±2,99*	18,76±1,87*
Фибриноген (г/л) / Fibrinogen (g/l)		2,93±0,22	3,14±0,24	3,66±0,24

**Примечание.**  $p < 0,05$  \* с группой сравнения;  $p < 0,05$  \*\* с контрольной группой.

**Note.**  $p < 0,05$  \* with the comparison group;  $p < 0.05$  \*\* with control group.

**Биохимические показатели крови на 3-и сутки после частичной гепатэктомии****Biochemical blood values on the 3<sup>rd</sup> day after partial hepatectomy**

Показатели Indicators		Значение (Value )		
		NaCl	ММСК+ГСК	ММСК+ЗКП
Показатели белкового обмена/ Protein metabolism indicators	общий белок (г/л) total protein (g/l)	50,03±4,82*	54,1±4,83*	53,67±4,34*
	альбумин (г/л) albumin (g/l)	19,80±2,51*	21,71±1,79*	22,01±2,04*
	мочевина (ммоль/л) urea ( mmol/l)	4,37±0,33*	4,54±0,69*	5,26±0,29* **
Показатели цитолиза/ Cytolysis indicators	АСТ (Ед/л)/ aspartate aminotransferase (U/l)	209,53±13,85*	159,83±15,8* **	156,97±13,35* **
	АЛТ(Ед/л)/ alanine aminotransferase (U/L)	155,24±9,38*	117,94±10,95* **	114,16±13,53* **
Показатель холестаза/ Cholestasis index	щелочная фосфатаза (Ед/л) / alkaline phosphatase (U/L)	106,67±10,45*	82,90±11,34* **	83,47±8,40* **
Уровень глюкозы (ммоль/л)/ Glucose level (mmol/l)		3,66±0,29*	3,71±0,36*	3,87±0,32*
Общий билирубин, (мкмоль/л) Total bilirubin, (μmol/L)		21,99±5,47*	19,84±1,85*	20,13±1,61*
Фибриноген (г/л) / Fibrinogen (g/l)		2,0±0,17*	2,31±0,29*	2,67±0,22*

**Примечание.**  $p < 0,05$  \* с подгруппой сравнения;  $p < 0,05$  \*\* с контрольной подгруппой.

**Note.**  $p < 0.05$  \* with the comparison subgroup;  $p < 0.05$  \*\* with the control subgroup.

лили доказать, что изучаемые виды клеток не влияют на морфофункциональное состояние печени интактных животных. В то же время при частичной гепатэктомии трансплантируемые клетки способны активировать в печени восстановительные процессы: ингибировать апоптоз, повышать митотическую активность, увеличивать количество двуядерных клеток, снижать число гепатоцитов с микроядрами, активировать ферменты репарации семейства PARP.

Снижение запрограммированной гибели гепатоцитов может быть связано со способностью ММСК индуцировать в клетках печени выработку белков теплового шока [24]. Такие белки способны поддерживать исходную конформацию белков, повышать устойчивость ферментов репарации (белки репарации семейства PARP), что приводит к коррекции нарушений в молекуле ДНК. Это подтверждается выявленным в ходе исследования увеличением активности

Таблица 7 Table 7

**Биохимические показатели крови на 7-е сутки после частичной гепатэктомии**

**Biochemical blood values on the 7st day after partial hepatectomy**

Показатели Indicators		Значение (Value )		
		NaCl	ММСК+ГСК	ММСК+ЗКП
Показатели белкового обмена/ Protein metabolism indicators	общий белок (г/л) total protein (g/l)	44,27±3,62*	50,0±4,97 *	60,27±5,09**
	альбумин (г/л) albumin (g/l)	20,59±1,90*	23,64±3,22 *	28,06±2,16**
	мочевина (ммоль/л) urea ( mmol/l)	4,57±0,46*	5,77±0,48**	5,63±0,35**
Показатели цитолиза/ Cytolysis indicators	АСТ (Ед/л)/aspartate amino- transferase (U/l)	153,86±16,96*	111,94±12,04**	111,21±10,01**
	альбумин (г/л) albumin (g/l)	137,10±16,29*	96,24±9,21**	95,50±8,57 **
Показатель холестаза/ Cholestasis index	щелочная фосфатаза (Ед/л) / alkaline phosphatase (U/L)	83,11±5,93*	65,59±3,73 **	65,61±4,36**
Уровень глюкозы (ммоль/л)/ Glucose level (mmol/l)		4,30±0,29*	5,20±0,34* **	5,20±0,34* **
Общий билирубин, (мкмоль/л) Total bilirubin, (μmol/L)		15,41±2,76*	14,06±1,28*	13,70±0,83*
Фибриноген (г/л) / Fibrinogen (g/l)		2,20±0,31*	2,83±0,26**	2,87±0,24**

**Примечание.**  $p < 0,05$  \* с подгруппой сравнения;  $p < 0,05$  \*\* с контрольной подгруппой.

**Note.**  $p < 0.05$  \* with the comparison subgroup;  $p < 0.05$  \*\* with the control subgroup.

Таблица 8/ Table 8

**Количество HGF (пкг/мл) на 7-е сутки после частичной гепатэктомии**

**Amount of HGF (pkg/ml) at 7st days after partial hepatectomy**

Группы животных (Animal groups)	Значение (Value )
Животные без гепатоектомии (группа сравнения) Animals without hepatoectomy (comparison group)	4,49 ± 0,39
NaCl (контрольная группа)	10,58 ± 0,88*
ММСК	13,0 ± 1,02* **
ММСК+ГСК	12,58 ± 0,95* **
ММСК+ЗКП	16,7 ± 2,62***

**Примечание.**  $p < 0,05$  \* с подгруппой сравнения;  $p < 0,05$  \*\* с контрольной подгруппой.

**Note.**  $p < 0.05$  \* with the comparison subgroup;  $p < 0.05$  \*\* with the control subgroup.

ферментов семейства PARP после введения ММСК. Уменьшение количества мутаций в молекуле ДНК сопровождается снижением содержания иницирующих, эффекторных каспаз, и, как следствие, снижением апоптоза. Увеличение устойчивости ферментов репарации также способствует снижению количества клеток с микроядрами.

Проведение сочетанных трансплантаций сопровождается снижением активности ферментов цитолиза и холестаза, что связано со способностью ММСК вырабатывать противовоспалительные цитокины [25, 26].

### Заключение

Показано, что при частичной гепатэктомии наиболее эффективной комбинацией клеток для восстановления морфофункционального состояния печени является проведение сочетанной трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных и звездчатых клеток печени. Выявленное в работе повышение митотической активности гепатоцитов может быть связано с обнаруженным в ходе исследования повышением уровня фактора роста гепатоцитов в плазме крови. К синтезу фактора роста гепатоцитов способны и ММСК, и ЗКП, что приводит к наибольшему увеличению его уровня при сочетанном введении ММСК и ЗКП. HGF обладает выраженным митогенным и морфогенным эффектом, что способствовало активации митотической активности гепатоцитов и, в результате, увеличению массы печени.

### Литература

(п.п. 5-7; 10-16; 184 19; 21; 23; 24 см. References)

- Ефанов М.Г., Гранов Д.А., Алиханов Р.Б., Руткин И.О., Цвиркун В.В., Казаков И.В. и др. Выживаемость после лапароскопических и открытых резекций печени по поводу метастазов колоректального рака. Сравнительный анализ с использованием псевдорандомизации. *Анналы хирургической гепатологии*. 2019; 24(4): 45-55.
- Хороненко В.Э., Донскова Ю.С., Баскаков Д.С., Дрожжина О.В., Сидоров Д.В., Ложкин М.В. и др. Профилактика печеночной недостаточности при обширных резекциях печени. *Анестезиология и реаниматология*. 2014; 59(4): 33-8.
- Вишневский В.А., Чжао А.В., Тупикин К.А., Коваленко Ю.А. Пострезекционная печеночная недостаточность/факторы риска, прогноз, профилактика. М.; 2018.
- Лызилов А.Н., Скуратов А.Г., Осипов Б.Б. Механизмы регенерации печени в норме и при патологии. *Проблемы здоровья и экологии*. 2015; 1(43): 4-9.
- Шафигуллина А.К., Заикина Э.И., Гаранина Е.Е. и др. Пролиферация клеток печени реципиента и хоуминг трансплантированных звездчатых клеток печени при частичной гепатэктомии у крыс. *Морфология*. 2019; 155(2): 324.
- Рудаков В.С., Деев Р. В., Губарев К.К. и др. Влияние трансплантации аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга на морфофункциональное состояние печени после обширной резекции в эксперименте. *Гены & Клетки*. 2018; 2: 77-82.
- Шафигуллина А.К., Гумерова А.А., Киясов А.П. Звездчатые клетки печени – региональные стволовые клетки или фактор микроокружения. *Гены & Клетки*. 2015; X(4): 23-8.
- Тепляшин А.С. Способ выделения мезенхимальных стволовых клеток. Патент на изобретение RU 2280462 С2. – 27.02.2006. Заявка № 2004110700/15 от 09.04.2004.
- Колмакова Т.С., Белик С.Н., Моргуль Е.В. *Использование микроядерного теста для оценки эффективности лечения аллергии у детей : метод. рекомендации*. РостГМУ. Ростов н/Д. 2013.
- Трубицина И.Е., Онищенко Н.А., Люндуп А.В. и др. Иммуномодулирующий эффект аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крыс. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016; 11(135): 59-63.

### References

- Efanov M.G., Granov D.A., Alihanov R.B., Rutkin I.O., Cvirkun V.V., Kazakov I.V. et al. Survival after laparoscopic and open liver resections for colorectal cancer metastases. Comparative analysis using pseudorandomization. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii*. 2019; 24(4): 45-55. (in Russian)
- Horonenko V.E., Donskova Yu.S., Baskakov D.S., Drozhzhina O.V., Sidorov D.V., Lozhkin M.V., et al. Prevention of liver failure with extensive liver resections. *Anesteziology i reanimatologiya*. 2014; 59(4): 33-8. (in Russian)
- Vishnevskij V.A., Chzhao A.V., Tupikin K.A., Kovalenko Yu.A. *Postresection liver failure/risk factors, prognosis, prevention [Post-rezeksionnaya pechenochnaya nedostatochnost']*. Moscow; 2018. (in Russian)
- Lyzikov A.N., Skuratov A.G., Osipov B.B. Mechanisms of liver regeneration in normal and pathological conditions. *Problemy zdorov'ya i ekologii*. 2015; 1(43): 4-9. (in Russian)
- Van Haele M., Snoeck J., Roskams T. Human liver regeneration: An etiology dependent process. *Int. J. Mol. Sci*. 2019; 20: 2332.
- Yagi S., Hirata M., Miyachi Y., Uemoto S. Liver Regeneration after Hepatectomy and Partial Liver Transplantation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(21): 1-23.
- Brown Ch., McKee Ch., Bakshi Sh. Mesenchymal Stem Cells: Cell Therapy and Regeneration Potential. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2019; 13(9): 1738-55.
- Shafigullina A.K., Zaikina E.I., Garanina E.E., et al. Proliferation of recipient liver cells and homing of transplanted stellate liver cells during partial hepatectomy in rats. *Morfologiya*. 2019; 155(2): 324. (in Russian)
- Rudakov V.S., Deev R.V., Gubarev K.K., et al. Effect of transplantation of allogeneic multipotent mesenchymal stromal bone marrow cells on the morphofunctional state of the liver after extensive resection in an experiment. *Geny & Kletki*. 2018; 2: 77-82. (in Russian)
- Christ B., Brückner B., Winkler S. The Therapeutic Promise of Mesenchymal Stem Cells for Liver Restoration. *Trends in Molecular Medicine*. 2016; 21(11): 673-86.
- Lee J. Y., Hong S. Hematopoietic Stem Cells and Their Roles in Tissue Regeneration. *International Journal of Stem Cells*. 2019.

12. Wu M., Zhang R., Zou Q. Comparison of the biological characteristics of mesenchymal stem cells derived from the human placenta and umbilical cord. *Sci. Rep.* 2018; 8, 50.
13. Heo J.S., Choi Y., Kim H.S. Comparison of Molecular Profiles of Human Mesenchymal Stem Cells Derived From Bone Marrow, Umbilical Cord Blood, Placenta and Adipose Tissue. *International Journal of Molecular Medicine.* 2016; 37(1): 115-25.
14. Panch S., Szymanski J., Savani B., Stroncek D.F. Sources of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Methods to Optimize Yields for Clinical Cell Therapy. 2017 *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation.* 23(8). 2017.
15. Ge J.Y., Zheng Y.-W., Tsuchida et al. Hepatic stellate cells contribute to liver regeneration through galectins in hepatic stem cell niche. *Stem Cell Research & Therapy.* 2020; 11:425.
16. Higashi T., Friedman S.L., Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv Drug Deliver Rev.* 2017; 121: 27–42.
17. Shafigullina A.K., Gumerova A.A., Kiyasov A.P. Stellate liver cells – regional stem cells or microenvironment factor. *Geny & Kletki.* 2015; X(4): 23-8. (in Russian)
18. Kordes C., Bock H., Reichert D. Hepatic stellate cells: current state and open questions. *Biol. Chem.* 2021; 402(9): 1021–32.
19. Lee S.M., Lee S.D., Wang S.Z., Sarkar D., Lee H.M. Effect of mesenchymal stem cell in leaver regeneration and clinical applications. *Hepatoma Res.* 2021; 7: 53.
20. Teplyashin A.S. Method of isolation of mesenchymal stem cells / Patent for an invention RU 2280462 C2. – 27.02.2006. Application № 2004110700/15 от 09.04.2004.
21. Mitchell C., Willenbring H. A reproducible and well-tolerated method for 2/3 partial hepatectomy in mice. *Nature protocols.* 2008; 3 (7): 1167-71. doi: 10.1038/nprot.2014.122.
22. Kolmakova T.S., Belik S.N., Morgul' E.V. *The use of a micronucleus test to evaluate the effectiveness of allergy treatment in children: method. Recommendations. [Ispolzovanie mikroyadernogo testa dlya otsenki effektivnosti lecheniya allergii u detey: metod. Rekomendatsii].* RostGMU. Rostov na Dony. 2013. (in Russian)
23. Kunzmann A., Lui D., Annett K., et al. Flow-cytometric assessment of cellular poly(ADP-ribosyl)ation capacity in peripheral blood lymphocytes. *Immunity & Ageing.* 2006; 3: 8 doi:10.1186/1742-4933-3-8.
24. Li T., Liu Y., Yu L. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Protect Against SCA3 by Modulating the level of 70 kD Heat Shock Protrin. *Cellular and molecular neurobiology.* 2018; 38: 641-55.
25. Trubitsina I.E., Onishchenko N.A., Lyundup A.V. et al. Immunomodulatory effect of allogeneic mesenchymal stem cells of rat bone marrow. *Ekspperimentalnaya i klinicheskaya gastroenterologiya.* 2016; 11(135): 59-63. (in Russian)
26. Andreeva E., Bobyleva P., Gornostaeva A. Interaction of multipotent mesenchymal stromal and immune cells: bidirectional effects. *Cytherapy.* 2017; 19(10): 1152-66.

**Сведения об авторах:**

**Маклакова Ирина Юрьевна**, доктор мед. наук, доцент, зав. каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России; ст. науч. сотр. ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», e-mail: makliu@mail.ru;

**Гребнев Дмитрий Юрьевич**, доктор мед. наук, доцент, зав. каф. патологической физиологии, e-mail: Dr-grebneb77@mail.ru;

**Базарный Владимир Викторович**, доктор мед. наук, проф. каф. клинической лабораторной диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, e-mail: bazarnyy\_v@bk.ru