

УДК 616-092.9

<https://doi.org/10.52420/umj.24.2.56>

<https://elibrary.ru/FRAAMD>



Влияние моделирования аутофагии в стволовых клетках на регенерацию миелоидной ткани мышц после их сублетального облучения

Владислав Александрович Иванов^{1,2✉}, Дмитрий Юрьевич Гребнев^{1,3}, Ирина Юрьевна Маклакова^{1,3}, Владимир Викторович Базарный¹, Лариса Георгиевна Полушина¹

¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

² Свердловский областной клинический психоневрологический госпиталь для ветеранов войн, Екатеринбург, Россия

³ Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия

✉ vlanov123@yandex.ru

Аннотация

Введение. Острая лучевая болезнь в настоящее время остается одной из актуальных проблем современной медицины. Новая стратегия с использованием мезенхимальных стволовых клеток (МСК) показывает свою эффективность. Однако степень и результаты научной разработанности терапии МСК противоречивы и требуют дальнейшего исследования с оценкой пролиферативной и секреторной активности, в частности выработки гемопоэз-индуцирующих факторов роста, уровня активации гемопоэза.

Цель работы — моделирование процесса аутофагии с оценкой степени восстановления гемопоэза с использованием модулированных МСК.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 60 аутбредных мышах. Все группы животных, за исключением контрольной, подверглись воздействию ионизирующего излучения (ИИ) с последующими трансплантацией модулированных и немодулированных МСК, оценкой ретикулоцитов и лейкоцитарной формулы в анализе крови, а также костного мозга с подсчетом миелограммы и проведением иммуноферментного анализа. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics 27.

Результаты. После воздействия ИИ отмечается снижение лимфоидного (–45,0%), нейтрофильного (–19,5%) и мегакариоцитарного (–52,2%) ростков. Экспрессия SCF и Flt3-ligand была выше в группе МСК + трегалоза по сравнению с рапамицином на 16,3% и 19,7% соответственно. Отмечен терапевтический эффект применения МСК в виде повышения клеточности костного мозга на +11,1% за счет клеток нейтрофильного и лимфоидного дифферендов. Применение МСК с активированной в них mTOR-независимой аутофагией сопровождалось большим увеличением клеточности костного мозга среди исследуемых групп: лимфоциты +12,9%, мегакариоциты +15,2%. При ингибировании аутофагии в МСК отмечается снижение миелокариоцитов (–8,7%), нейтрофильного (–14,5%) и лимфоидного (–9,8%) дифферендов.

Заключение. Применение МСК с активированной mTOR-независимой аутофагией имеет большой терапевтический потенциал в восстановлении гемопоэза. Ингибирование аутофагии в МСК ухудшает их биологические свойства в отношении выработки факторов роста и регенерации миелоидной ткани после воздействия ИИ.

Ключевые слова: аутофагия, мезенхимальные стволовые клетки, ионизирующее излучение, гемопоэз, mTOR, трегалоза, пролиферация

Конфликт интересов. Д. Ю. Гребнев и В. В. Базарный — члены редакционной коллегии, И. Ю. Маклакова — член редакционного совета «Уральского медицинского журнала»; не принимали участия в рассмотрении и рецензировании материала, а также принятии решения о его публикации. Остальные авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Уральского государственного медицинского университета (протокол № 7 от 27 октября 2023 г.) и проведено в соответствии с этическими стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации.

Для цитирования: Влияние моделирования аутофагии в стволовых клетках на регенерацию миелоидной ткани мышей после их сублетального облучения / В. А. Иванов, Д. Ю. Гребнев, И. Ю. Маклакова [и др.] // Уральский медицинский журнал. 2025. Т. 24, № 2. С. 56–70. DOI: <https://doi.org/10.52420/umj.24.2.56>. EDN: <https://elibrary.ru/FRAAMD>.

The Effect of Autophagy Modeling in Stem Cells on the Regeneration of Myeloid Tissue in Mice after Their Sublethal Irradiation

Vladislav A. Ivanov^{1,2✉}, Dmitry Yu. Grebnev^{1,3}, Irina Yu. Maklakova^{1,3}, Vladimir V. Bazarnyi¹, Larisa G. Polushina¹

¹ Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

² Sverdlovsk Regional Clinical Neuropsychiatric Hospital for War Veterans, Ekaterinburg, Russia

³ Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg, Russia

✉ vlanov123@yandex.ru

Abstract

Introduction. Acute radiation disease is one of the urgent problems of modern medicine. The new approach using mesenchymal stem cells (MSCs) show its effectiveness. Results of MSC therapy is contradictory and requires further researches to assess the production of hematopoiesis-inducing growth factors and the level of hematopoiesis activation.

The purpose of the study was modeling of autophagy process with estimation of the degree of hematopoiesis restoration using modulated MSCs.

Materials and methods. The experiment was carried out on 60 outbred mice. Animals were exposed to ionizing radiation (IR) with transplantation of modulated and unmodulated MSCs to analyze reticulocyte, leukocyte formula, bone marrow with myelogram counting and enzyme immunoassay. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics 27 program.

Results and discussion. After IR exposure, a decreased in lymphoid (–45.0%), neutrophilic (–19.5%) and megakaryocyte lineages (–52.2%) was noted. Expression of SCF and Flt3-ligand was higher in the MSC + trehalose group compared to rapamycin by 16.3% and 19.7%. Using MSCs increased bone marrow cellularity by +11.1% due to neutrophilic and lymphoid cells. MSC with activated mTOR-independent autophagy increased in bone marrow cellularity among the studied groups: lymphocytes +12.9%, megakaryocytes +15.2%. Inhibition of autophagy in MSC decreased numbers of myelokaryocytes (–8.7%), neutrophilic (–14.5%) and lymphoid (–9.8%) cells.

Conclusion. The use of MSCs with activated mTOR-independent autophagy has a greater therapeutic potential in the restoration of hematopoiesis. Inhibition of autophagy in MSCs worsens their biological properties in terms of growth factor production and myeloid tissue regeneration after IR exposure.

Keywords: autophagy, mesenchymal stem cells, ionizing radiation, hematopoiesis, mTOR, trehalose, proliferation

Conflict of interest. Dmitry Yu. Grebnev and Vladimir V. Bazarnyi are an editorial board members, Irina Yu. Maklakova is an editorial council member of *Ural Medical Journal*, and they did not participate in reviewing the material or making a decision about its publication. The other authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest.

Conformity with the principles of ethics. The research and was approved by the Local Ethics Committee of the Ural State Medical University (protocol No. 7 dated 27 October 2023) and was conducted in accordance with the ethical standards set out in the Declaration of Helsinki.

For citation: Ivanov VA, Grebnev DYu, Maklakova IYu, Bazarnyi VV, Polushina LG. The effect of autophagy modeling in stem cells on the regeneration of myeloid tissue in mice after their sublethal irradiation. *Ural Medical Journal*. 2025;24(2):56–70. DOI: <https://doi.org/10.52420/umj.24.2.56>. EDN: <https://elibrary.ru/FRAAMD>.

© Иванов В. А., Гребнев Д. Ю., Маклакова И. Ю., Базарный В. В., Полушина Л. Г., 2025

© Ivanov V. A., Grebnev D. Yu., Maklakova I. Yu., Bazarnyi V. V., Polushina L. G., 2025

Список сокращений

ИИ — ионизирующее излучение

МСК — мезенхимальные стволовые клетки

ОЛБ — острая лучевая болезнь

CSFs — колониестимулирующие факторы роста (*англ.* Colony-Stimulating Factors): **G-CSF** — гранулоцитарный CSF (*англ.* Granulocyte CSF); **GM-CSF** — гранулоцитарно-макрофагальный CSF (*англ.* Granulocyte-Macrophage CSF); **M-CSF** — макрофагальный CSF (*англ.* Macrophage CSF)

FLT3LG — лиганд fms-подобной тирозинкиназы 3 (*англ.* fms-Related Tyrosine Kinase 3 Ligand)

ILs — интерлейкины (*англ.* Interleukins)

MAP1LC3b — легкая цепь 3B белков 1A/1B, ассоциированных с микротрубочками (*англ.* Microtubule-Associated Proteins 1A/1B Light Chain 3B; LC3B)

Me — медиана (*англ.* Median)

mTOR — мишень рапамицина млекопитающих (*англ.* Mammalian Target of Rapamycin)

Q₁ & Q₃ — первый и третий квартили (*англ.* First and Third Quartiles)

Sca-1 — антиген стволовых клеток 1 (*англ.* Stem Cells Antigen 1)

SCF — фактор стволовых клеток (*англ.* Stem Cell Factor)

TGF-β1 — трансформирующий фактор роста β1 (*англ.* Transforming Growth Factor β1)

Введение

В связи с широким применением ионизирующего излучения (ИИ) и радионуклидных препаратов в диагностике и лечении различных заболеваний, использованием радиоактивных материалов в промышленных и исследовательских целях, увеличением числа конфликтов между странами и угроз террористических атак актуальным является поиск эффективных методов лечения острой лучевой болезни (ОЛБ) [1–3].

Использование клеточных технологий, применение стволовых клеток представляется перспективным методом для терапии ОЛБ. В ранее проведенных исследованиях показана эффективность использования мезенхимальных стромальных клеток (МСК) для лечения ОЛБ [4]. МСК впервые описаны советским ученым А. Я. Фриденштейном в 1968 г. [5].

Эффективность использования МСК для лечения ОЛБ обусловлена их биологическими свойствами. МСК синтезируют факторы, играющие важную роль в регуляции кроветворения за счет синтеза широкого спектра интерлейкинов (*англ.* Interleukins, ILs), в т. ч. IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-12 и др.; колониестимулирующих факторов роста (*англ.* Colony-Stimulating Factors, CSFs) — макрофагального (*англ.* Macrophage CSF, M-CSF), гранулоцитарного (*англ.* Granulocyte CSF, G-CSF), гранулоцитарно-макрофагального (*англ.* Granulocyte-Macrophage CSF, GM-CSF); лиганда fms-подобной тирозинкиназы 3 (*англ.* fms-Related Tyrosine Kinase 3 Ligand, FLT3LG) [6, 7]. Эти клетки могут дифференцироваться в адипоцитарном и остеогенном направлениях, формируя микроокружение для гемопоэтических стволовых клеток [8]. Наличие у МСК выраженных иммуносупрессивных свойств, способность к выработке про-

тивовоспалительных цитокинов определяют возможность проведения аллогенной трансплантации [9, 10].

Источниками МСК могут быть многие ткани и органы, в т. ч. костный мозг, плацента, жировая ткань [11], при выделении из которых МСК имеют разный пролиферативный и дифференцировочный потенциал. Плацентарные МСК отличаются от клеток других источников возможностью неоперативного получения, обладают большей пролиферативной и иммуносупрессивной активностью [12]. Следует отметить, что плацентарные МСК в большей степени, чем МСК, выделенные из костного мозга, синтезируют биологически активные вещества, регулирующие гемопоэз: G-CSF, GM-CSF, IL-8 [13].

Ранее коллективом авторов проведен ряд экспериментов по изучению функциональных свойств МСК при сочетанной терапии без изменения функциональной активности самих стволовых клеток [14–17]. Таким образом, остается актуальным поиск методов, способных увеличить жизнеспособность мигрировавших в костный мозг после воздействия ИИ МСК, выработку ими биологически активных веществ. Одним из таких способов может быть моделирование аутофагии в МСК.

Аутофагия — биологический процесс, в ходе которого в клетке происходит удаление поврежденных белков, органелл, а также изменение энергетического гомеостаза [18, 19]. Аутофагию можно рассматривать как реакцию адаптации клетки к изменяющимся условиям: дефициту питательных веществ, кислорода [19, 20]. Данные о влиянии аутофагии на жизнеспособность МСК, их пролиферативную активность противоречивы. В ряде исследований показано повышение пролиферации МСК после активации в них аутофагии [21], в других — отсутствие изменения пролиферации МСК [22]. Результаты исследований относительно выработки биологически активных веществ МСК после изменения аутофагии в них также отличаются. В исследованиях Л. Гао и др. (*англ.* L. Gao et al.) сообщается, что активация аутофагии в МСК усиливает их иммуносупрессивные свойства, а ее ингибирование приводит к уменьшению выработки TGF- β 1¹ [23]. Отчасти эти результаты подтверждены в работе К.-В. Ким и др. (*англ.* K.-W. Kim et al.; 2015), где также показано увеличение секреции МСК ряда иммуносупрессивных факторов (TGF- β 1, IL-10 и индоламина-2,3-диоксигеназы) после активации в них аутофагии по сравнению с МСК, в которых моделирование аутофагии не производилось. Однако в исследованиях Ш. Дан и др. (*англ.* S. Dang et al.; 2014) обнаружено, что именно ингибирование, а не активация аутофагии способствует МСК-опосредованному подавлению воспаления [24, 25].

Таким образом, имеющийся научный задел по изучению влияния аутофагии на пролиферативную и секреторную активность МСК указывает на необходимость дальнейших исследований для детального обоснования механизмов полученных результатов. Также хочется подчеркнуть, что в большинстве опубликованных работ по влиянию аутофагии на жизнеспособность МСК, их пролиферативную и секреторную активность представлены результаты, полученные в *in vitro* исследованиях, что необязательно может соответствовать условиям *in vivo*.

Цель работы — определить механизмы моделирования аутофагии для изменения функциональных характеристик МСК для активации гемопоэза после воздействия ИИ.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 60 аутбредных ICR/CD1 мышам-самцам возраста 14–15 недель, вес 22–24 г. Проведено случайное распределение на 6 групп по 10 особей

¹ TGF- β 1 — трансформирующий фактор роста β 1 (*англ.* Transforming Growth Factor β 1).

в каждой. Группа 1 — интактные животные. Животные остальных групп подверглись воздействию ИИ в дозе 5,0 Гр. Группа 2 (контрольная) — животные без введения МСК. Животным групп 3–5 через 1 ч. после воздействия ИИ внутривенно введены МСК в количестве 1×10^6 клеток на мышь: группа 3 — МСК без изменения в них аутофагии (группа сравнения); группа 4 — МСК с активированной в них mTOR-зависимой¹ аутофагией (рапамицин 3 мкмоль/л); группа 5 — МСК с активированной в них mTOR-независимой аутофагией (трегалола 100 ммоль/л). Животным группы 6 введены МСК с ингибированной в них аутофагией (3-метиладенин 10 мкмоль/л) [23, 26].

Мыши адаптировались в течение 1 недели в стандартных условиях (циклы освещения по 12 ч. в день, температура 21–22 °С, свободный доступ к воде и еде).

Облучение лабораторных животных

Моделирование острой лучевой болезни проведено путем воздействия ИИ в сублетальной дозе 5,0 Гр мощностью 0,6 Гр/мин. [27]. Облучение животных проводилось с использованием γ -терапевтической установки «Агат-С Со-60» (Россия). Для проведения подсчета поглощенной дозы применялись дозиметр UNIDOS (PTW-Freiburg, Германия) и ионизационная камера Farmer (PTW-Freiburg, Германия), расположенная на высоте половины роста мыши. При достижении необходимой дозы сеанс облучения прекращался.

Методы исследования кроветворной ткани

На 21 сутки после воздействия ИИ осуществлялось выведение животных из эксперимента, которое производилось по рекомендациям Коллегии Евразийской экономической комиссии (2023)². Для забора крови проведена анестезия [28]. После забора крови, пока животное все еще находилось под наркозом, для его эвтаназии осуществлялась цервикальная дислокация.

Подсчет форменных элементов крови, анализ миелограммы

Объем крови в количестве 1,4–1,7 мл получен путем пункции сердца. Кровь немедленно помещалась в пробирку, обработанную этилендиаминтетрауксусной кислотой. Для определения числа ретикулоцитов изготовлены цитологические препараты, окрашенные с использованием раствора бриллиантового крезолового синего. Подсчет количества ретикулоцитов в мазках крови производился на 2000 эритроцитов. Подсчет форменных элементов крови осуществлялся на гематологическом анализаторе МЕК6400 (Nihon Kohden, Япония).

Получение внеклеточной фракции костного мозга

После проведенной эвтаназии животного с помощью набора хирургических инструментов проведено отделение кожи, мышц, сухожилий мышц, прикрепленных к бедренной кости. После извлечения бедренной кости ее эпифизы были отсечены. Для вымывания костного мозга использовано 0,5 мл фосфатно-солевого буферного раствора Дульбекко. Полученная суспензия пипетирована для получения однородной смеси и центрифугирована при 3000 g в течение 15 мин. Надосадочная жидкость собиралась и хранилась при температуре –80 °С для последующего анализа [29].

Определение цитокинов во внеклеточной фракции костного мозга

Уровень концентрации цитокинов фактора стволовых клеток (*англ.* Stem Cell Factor, SCF), G-CSF, а также FLT3LG во внеклеточной фракции костного мозга определены методом

¹ mTOR — мишень рапамицина млекопитающих (*англ.* Mammalian Target of Rapamycin).

² О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований: рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. № 33. URL: <https://clck.ru/3LcAdZ> (дата обращения: 20.12.2023).

иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с инструкциями производителя. Для этого использованы следующие наборы: для ИФА FLT3LG мыши (Abcam, США), определения G-CSF (Abcam, США), определения SCF (Abcam, США). Исследования проведены на иммуноферментном анализаторе Chem Well 2910 Combi (Awareness Technology Inc., США).

Исследование морфологии костного мозга

Изготовлены цитологические препараты. Фиксация осуществлена красителем (эозин метиленовый синий) с последующей окраской по Романовскому на протяжении 2 мин. Анализ миелограммы проводился на 1 000 клеток.

Подсчета миелокарицитов производился путем вымывания костного мозга из другой бедренной кости с помощью 0,5 мл фосфатно-солевого буферного раствора Дульбекко. Подсчет миелокарицитов осуществлялся в камере Горяева.

Выделение и культивирование мезенхимальных стромальных клеток

Получение культуры МСК производилось из хориона плаценты лабораторных мышей. Мононуклеарная фракция клеток получена путем последовательной механической и ферментативной обработки хориона плаценты. Производилось дальнейшее культивирование клеток в условиях CO₂-инкубатора, где были заданы следующие параметры: содержание CO₂ 5 %, влажность 90 %, температура инкубатора 37 °С. Использовался набор MesenCult Expansion Kit (Mouse; StemCell Technologies Canada Inc., Канада) с дополнительным введением 2 ммоль L-глутамин и 50 мкг/мл стрептомицин и 50 ЕД/мл пенициллин.

Идентификация мезенхимальных стромальных клеток

Использован метод проточной цитометрии. На цитометре FACSCalibur (BD Biosciences, США) в суспензии трансплантируемых клеток оценивалось содержание клеток, позитивных по CD105 (эндоглину), CD29 (интегрину β1), антигену стволовых клеток 1 (*англ.* Stem Cells Antigen 1, Sca-1) и негативных по CD45, с помощью набора Mouse Mesenchymal Stem Cell Multi-Color FlowCytometry Kit (R&D Systems, США) в соответствии с протоколом производителя.

Активация и ингибирование аутофагии в мезенхимальных стромальных клетках

МСК высеяны во флаконы 25 см² в концентрации 2,5 млн клеток на флакон в MesenCult Expansion Medium (StemCell Technologies Canada Inc., Канада) с последующим добавлением в первый флакон для активации mTOR-зависимой аутофагии рапамицин 3 мкмоль/л; второй для активации mTOR-независимой аутофагии — дигидрат D- (+)-трегалозы (100 ммоль/л); третий для ингибирования аутофагии — 3-метиладенин (10 мкмоль/л). Культивирование МСК проводилось в течение 24 ч. [30].

Иммуноферментный анализ

Для верификации аутофагии и определения количества белка mTOR проведено определение экспрессии белков mTOR, MAP1LC3b (LC3B)¹, беклина-1 в лизате МСК.

Клетки ресуспендированы в свежем лизис-буфере, содержащем 2 ммоль фенилметилсульфонилфторида (Cloud-Clone, КНР) в концентрации 10⁷ клеток/мл. Инкубирование — 20 мин. Для удаления детрита клеток проведено центрифугирование в течение 10 мин, при 1 500 g. Надосадочная жидкость была собрана и хранилась при температуре -40 °С.

Для определения экспрессии белков аутофагии и белка mTOR использованы наборы для определения серин/треонин-протеинкиназы mTOR, MAP1LC3b, беклина-1. Исследования проведены на иммуноферментном анализаторе Chem Well 2910 (Awareness Technology Inc., США).

¹ MAP1LC3b — легкая цепь 3В белков 1А/1В, ассоциированных с микротрубочками (*англ.* Microtubule-Associated Proteins 1A/1B Light Chain 3B).

Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics 27. Выполнена предварительная оценка нормальности распределения (W -критерий Шапиро — Уилка). Для анализа использованы критерий Краскела — Уоллиса, U -критерий Манна — Уитни с поправкой Бонферрони при множественном сравнении. Результаты представлены в виде медианы (англ. Median, Me), первого и третьего квартилей (англ. First and Third Quartiles, Q_1 & Q_3). Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,050$. Графическое представление результатов работы проведено с использованием программы GraphPad Prism 9.4.1.681.

Результаты

Регуляция аутофагии в мезенхимальных стромальных клетках

Через 24 ч. после добавления в культуру МСК рапамицина, трегалозы и 3-метиладенина установлено изменение экспрессии белков, отражающих уровень аутофагии. Содержание LC3B и беклина-1 на фоне рапамицина было увеличено соответственно в 3,2 ($p = 0,001$) и 3,6 ($p = 0,001$) раза по сравнению с МСК без моделирования аутофагии. После добавления трегалозы также отмечено увеличение уровня изучаемых белков аутофагии соответственно в 1,9 ($p = 0,001$) и 2,2 ($p = 0,001$) раза. Индуцирование аутофагии в плацентарных МСК рапамицином было выражено в большей степени, чем после добавления трегалозы. В этом случае количество LC3B и беклина-1 было соответственно на 39,6 % ($p = 0,001$) и 38,3 % ($p = 0,001$) больше, чем после добавления трегалозы. При добавлении 3-метиладенина происходило снижение концентрации белков аутофагии: концентрация LC3B и беклина-1 была снижена по сравнению с группой сравнения на 58,8 % ($p = 0,001$) и 63,3 % ($p = 0,001$) соответственно.

Содержание белка mTOR в лизате МСК после добавления рапамицина было на 75,7 % ниже ($p = 0,001$), чем в МСК без добавления препарата (группа сравнения). Отмечено, что добавление трегалозы не приводило к изменению экспрессии mTOR. Таким образом, мы установили, что добавление рапамицина в концентрации 3 мкмоль/л и трегалозы 100 ммоль/л к культуре плацентарных МСК вызывает активацию в них аутофагии. Однако если рапамицин активирует аутофагию путем ингибирования белка mTOR, то активация аутофагии трегалозой происходит в меньшей степени, mTOR — независимым способом. Препарат 3-метиладенин ингибирует аутофагию, не влияя при этом на уровень белка mTOR (рис. 1).

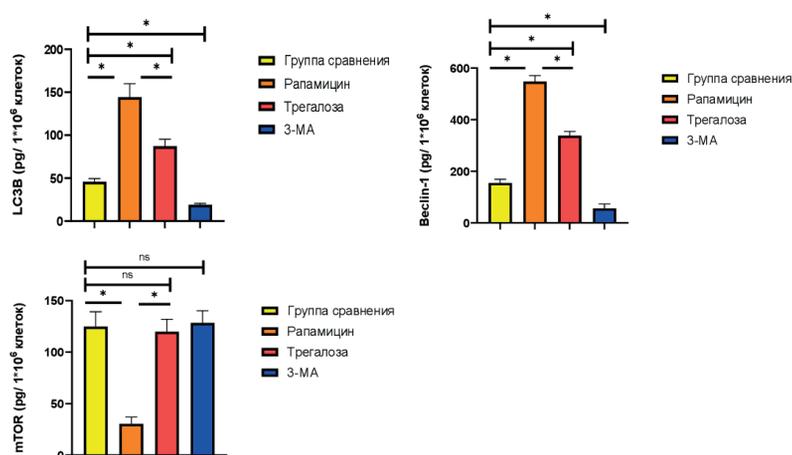


Рис. 1. Уровень белков аутофагии в лизате МСК через 24 ч. после культивирования:

* — $p < 0,050$; ns — $p > 0,050$

Влияние мезенхимальных стромальных клеток с измененной в них аутофагией на содержание гемопоэтических факторов в костном мозге после воздействия ионизирующего излучения

В ходе анализа полученных результатов на 21 сутки эксперимента отмечено, что содержание G-CSF, SCF и FLT3LG в костном мозге не восстановилось и оставалось выше значений у интактных животных. После трансплантации МСК без изменения в них аутофагии отмечено увеличение количества SCF в костном мозге на 22,5% ($p < 0,001$). В то же время отсутствовало статистически значимое изменение содержания G-CSF (+10,8%; $p = 0,112$) и FLT3LG (+4,8%; $p = 0,545$) в ответ на введение МСК. Уровень этих гемопоэтических факторов не отличался по сравнению с животными, которых облучали, но не вводили МСК.

Трансплантация МСК с активированной в них аутофагией достоверно приводит к повышению содержания гемопоэтических факторов в сравнении с группами контроля и трансплантированных МСК без изменения в них аутофагии. Анализируя уровень гемопоэтических цитокинов в костном мозге при mTOR-зависимой аутофагии (рапамицин) и mTOR-независимой аутофагии (трегалоза), следует отметить, что экспрессия SCF и FLT3LG была выше после добавления в культуру МСК препарата трегалозы, по сравнению с рапамицином, на 16,3% ($p = 0,001$) и 19,7% ($p = 0,021$) соответственно.

Введение плацентарных МСК с ингибированной в них аутофагией мышам после воздействия ИИ, наоборот, привело к снижению SCF в костном мозге на 20,5% ($p = 0,003$) по сравнению с введением МСК с неизменной в них аутофагией. При этом содержание G-CSF и FLT3LG не отличалось от данных в группе сравнения (рис. 2).

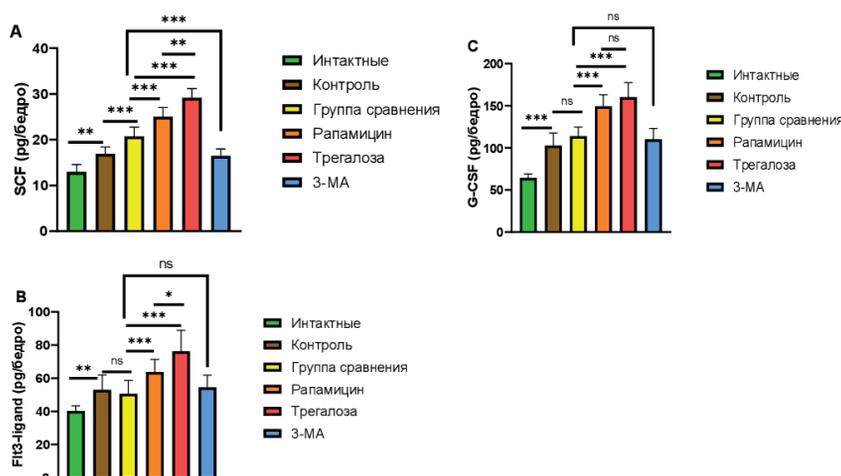


Рис. 2. Уровни содержания гемопоэтических факторов роста:

* — $p < 0,050$; ** — $p < 0,005$; *** — $p < 0,001$; **** — $p < 0,0001$; ns — $p > 0,050$

Влияние мезенхимальных стромальных клеток с измененной в них аутофагией на клеточный состав костного мозга мыши и содержание форменных элементов крови после облучения в сублетальной дозе

На 21 сутки после воздействия ИИ в костном мозге оставалось сниженным общее количество миелокариоцитов, поскольку содержание клеток лимфоидного (–45,0%; $p = 0,001$), нейтрофильного (–19,5%; $p = 0,0001$), эритроидного и мегакариоцитарного рост-

ков ($-52,2\%$; $p = 0,0001$) не восстановилось и было ниже значений интактных животных. При анализе содержания клеток моноцитарного ряда не было статистически значимых отличий от контроля.

Отмечен эффект от проведенной трансплантации МСК (группа сравнения) в отношении восстановления гемопоэза после воздействия ИИ. На фоне трансплантации МСК отмечается эффект увеличения клеточности костного мозга в сравнении с контролем ($+11,1\%$; $p = 0,0002$). Однако при этом не произошло восстановления количества миелокариоцитов до значений интактных животных. Увеличение клеточности костного мозга обусловлено повышением содержания клеток нейтрофильного и лимфоидного дифферононов. После введения МСК количество нейтрофильных клеток восстановилось до значений нормы. Активация миелоидного ростка проявлялась увеличением количества созревающих и зрелых клеток дифферона: метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Следует отметить, что эффект в отношении клеток эритроидного и тромбоцитарного ростков после трансплантации МСК без измененной в них аутофагии не выявлен.

При анализе данных клеточности костного мозга лабораторных животных на 21 сутки после воздействия ИИ отмечено, что трансплантация МСК с активированной в них аутофагией сопровождалась увеличением количества миелокариоцитов по сравнению с введением МСК без моделирования в них аутофагии (группа сравнения). Это достигалось как за счет активации лимфопоэза, так и за счет эритро- и мегакариопоэза.

При сравнении эффективности восстановления гемопоэза после введения МСК, в которых аутофагия была активирована разными способами (mTOR-зависимым и mTOR-независимым), следует отметить более выраженное действие после введения МСК, которые культивировали в присутствии препарата трегалоза. Применение МСК с активированной аутофагией без ингибирования белка mTOR привело к увеличению клеточности костного мозга, повышению клеток лимфоидного ($+12,9\%$; $p = 0,003$) и мегакариоцитарного ($+15,2\%$; $p = 0,005$) дифферононов.

Ингибирование аутофагии в МСК не имеет статистически значимых изменений клеточности костного мозга в сравнении с группой контроля. Однако наблюдается достоверное снижение количества клеток по сравнению с терапией МСК: миелокариоцитов ($-8,7\%$; $p = 0,0003$), нейтрофильного ($-14,5\%$; $p = 0,0003$), лимфоидного ($-9,8\%$; $p = 0,003$) дифферононов (рис. 3).

Выявленные изменения в общем анализе крови на 21 сутки после воздействия ИИ отражают картину в костном мозге. Установлено, что не произошло восстановления до значений интактных животных общего количества лейкоцитов, а также тромбоцитов и эритроцитов (рис. 4).

Трансплантация МСК привела к увеличению общего количества лейкоцитов за счет повышения содержания лимфоцитов $+28,7\%$ ($p = 0,002$) и гранулоцитов $+40,2\%$ ($p = 0,005$). При этом отсутствовал эффект от трансплантации этих клеток в отношении содержания эритроцитов и тромбоцитов по сравнению с группой контроля.

Введение лабораторным животным МСК с активированной в них аутофагией также способствовало восстановлению общего количества лейкоцитов за счет повышения содержания лимфоцитов. При этом такой эффект был выражен в большей степени, чем введение МСК с неизменной в них аутофагией. Содержание гранулоцитов и моноцитов при этом достоверно не отличалось от данных в группе сравнения. Следует подчеркнуть, что трансплантация клеток с активированной в них аутофагией вызывала также восста-

новление содержания в крови ретикулоцитов, эритроцитов и тромбоцитов. Подобные изменения не были обнаружены в группе сравнения. При сравнении терапевтического потенциала влияния аутофагии на тромбопоэз отмечается, что количество тромбоцитов в крови после введения МСК, в которых не проводилось ингибирование mTOR-комплекса 1 (культивирование МСК в присутствии трегалозы), восстанавливается в большей степени (+11,0%). Содержание ретикулоцитов и эритроцитов в изучаемых группах существенно не отличалось.

Иная картина наблюдалась на фоне ингибирования аутофагии. Трансплантация животным МСК, предварительно культивированных в присутствии 3-метиладенина не приводило к изменению содержания форменных элементов крови по сравнению с контролем. Восстановление содержания форменных элементов крови в группе МСК с ингибированной в них аутофагией в сравнении с группой МСК, в которых аутофагия не была изменена, отличалось уменьшением общего количества лейкоцитов в крови (-17,5%; $p = 0,002$), лимфоцитов (-14,9%; $p = 0,001$), гранулоцитов (-27,9%; $p = 0,005$).

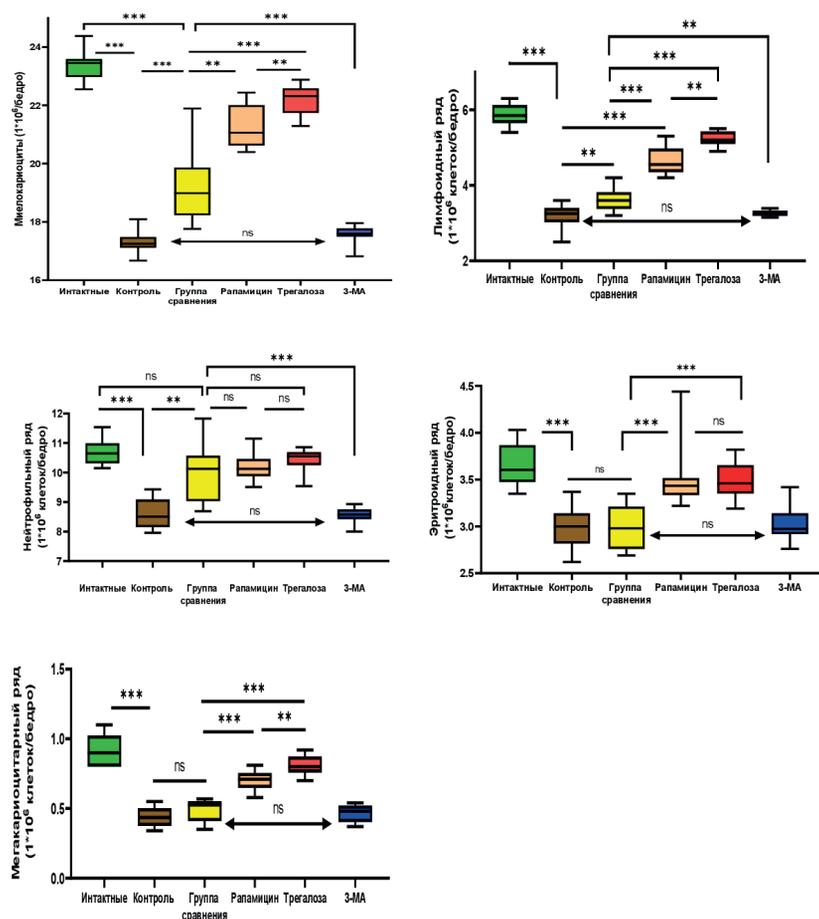


Рис. 3. Клеточный состав костного мозга после воздействия ИИ:

** — $p < 0,005$; *** — $p < 0,001$; **** — $p < 0,0001$; ns — $p > 0,050$

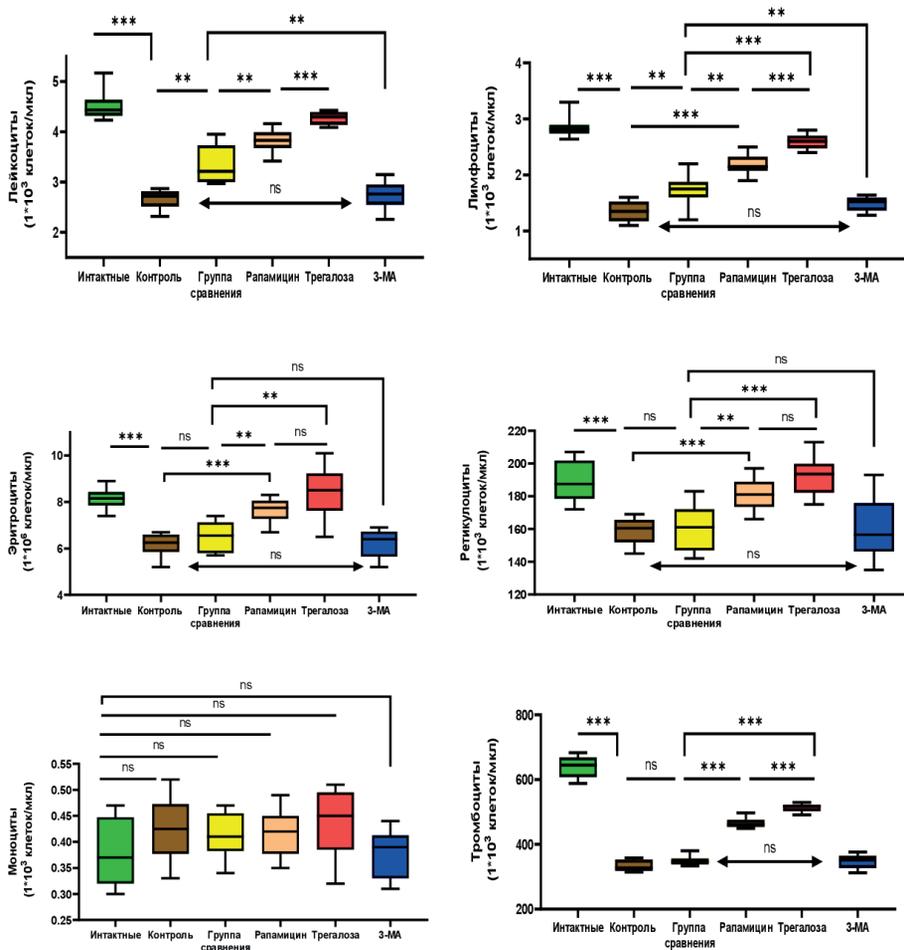


Рис. 4. Содержание форменных элементов в крови на 21 сутки:

** — $p < 0,005$; *** — $p < 0,001$; **** — $p < 0,0001$; ns — $p > 0,050$

Обсуждение

В настоящем исследовании мы сравнили регенераторный потенциал МСК с активированной и ингибированной в них аутофагией в отношении восстановления миелоидной ткани после воздействия сублетальной дозы ИИ. Возможность использования МСК для активации гемопоэза показана в ранее проведенных исследованиях [31]. Способность МСК усиливать регенерацию миелоидной ткани обусловлена их способностью вырабатывать широкий спектр гемопоэтических факторов [32]. Нами также отмечен эффект от трансплантации плацентарных МСК. Это действие было выражено в активации гранулоцитопоэза и лимфопоэза. Известно, что рецепторы к FLT3LG (CD135) располагаются на стволовых гемопоэтических клетках, а также мультипотентных предшественниках с лимфоидным праймированием и клетках-предшественниках лимфопоэза. Стимуляция CD135-рецепторов на поверхности гемопоэтических клеток повышает их пролиферацию и дифференцировку преимущественно в лимфоидном направлении [33–35].

Взаимодействие биологически активных веществ (FLT3LG, G-CSF), выделяемых резидентными МСК и другими клетками микроокружения гемопоэтических стволовых клеток, определяло восстановление лейкопоэза и гранулоцитопоэза.

Мы объясняем отсутствие статистически значимого влияния на 21 сутки после воздействия ИИ со стороны МСК без изменения в них аутофагии в отношении эритроидного и мегакариоцитарного ростков низкой секреторной активностью эритропоэтина и SCF [31]. Рядом авторов установлено, что рецептор к SCF (CD117; c-Kit) располагается как на мультипотентных стволовых гемопоэтических клетках, мультипотентных прогениторных клетках, так и олигопотентных прогениторных клетках — мегакариоцитарно-эритроидно-прогениторных клетках. Стимуляция пролиферации последних может обеспечить восстановление эритро-мегакариопоэза, что и было достигнуто после введения МСК с активированной аутофагией. В этом случае уровень в костном мозге SCF был выше, чем после введения МСК без моделирования в них аутофагии.

Введение МСК с активированной в них аутофагией оказывает стимулирующее влияние в большей степени на восстановление гемопоэза, в т. ч. за счет стимуляции эритропоэза и мегакариопоэза. После введения МСК с активированной в них аутофагией в костном мозге уровень FLT3LG, G-CSF и SCF был повышен.

Повышение выработки гемопоэз-индуцирующих факторов на фоне активации аутофагии может быть связано с элиминацией поврежденных органелл, измененных белков [37]. Эти изменения способствуют оптимизации энергетического обмена, повышению жизнеспособности трансплантированных клеток в костном мозге.

Заключение

Введение МСК с активированной аутофагией по mTOR-независимому пути способствовало более выраженному восстановлению гемопоэза, что обусловлено большей концентрацией FLT3LG и SCF в костном мозге, по сравнению с действием МСК, в которых аутофагия была индуцирована блокированием белка mTOR. Функции белка mTOR в комплексе 1 mTOR (ингибируемого рапамицином) в клетке многогранны: влияние на метаболизм, энергетический обмен в клетке путем стимуляции биогенеза митохондрий, ингибирования митофагии, стимуляции пролиферации клетки и выработки ею биологически активных веществ [38]. После активации аутофагии путем блокирования этого белка в МСК нами впервые установлено снижение содержания гемопоэтических факторов в исследовании *in vivo*.

Ингибирование аутофагии МСК, наоборот, ухудшило биологические свойства этих клеток в отношении выработки SCF и регенерации миелоидной ткани после воздействия ИИ.

Проведенные исследования позволяют рассматривать возможность использования МСК с активированной в них аутофагии по mTOR-независимому пути как перспективный метод активации регенерации миелоидной ткани после воздействия ИИ.

Список источников | References

1. Jones JA, Karouia F, Cristea O, Casey RC, Popov D, Maliev V. Ionizing radiation as a carcinogen. In: *Comprehensive toxicology*. 3rd ed. Elsevier Science; 2018. P. 183–225. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64295-2>.
2. Benderitter M, Caviggioli F, Chapel A, Coppes RP, Guha C, Klinger M, et al. Stem cell therapies for the treatment of radiation-induced normal tissue side effects. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014;21(2):338–355. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5652>.
3. Puckett Y, Al-Naser YA, Nappe TM. Ionizing radiation. In: *StatPearls*. Treasure Island: StatPearls Publishing. PMID: <https://pubmed.gov/30480970>.
4. Fukumoto R. Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome. *Military Medical Research*. 2016;3:17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40779-016-0086-1>.

5. Friedenstein J, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation*. 1968;6(2):230–247. DOI: <https://doi.org/10.1097/00007890-196803000-00009>.
6. Deans J, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: Biology and potential clinical uses. *Experimental Hematology*. 2000;28(8):875–884. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0301-472x\(00\)00482-3](https://doi.org/10.1016/s0301-472x(00)00482-3).
7. El-Naseery NI, Elewa YHA, El-Behery EI, Dessouky AA. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells restored hematopoiesis by improving radiation induced bone marrow niche remodeling in rats. *Annals of Anatomy — Anatomischer Anzeiger*. 2023;250:152131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2023.152131>.
8. Xie Q, Liu R, Jiang J, Peng J, Yang C, Zhang W, et al. What is the impact of human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on clinical treatment? *Stem Cell Research & Therapy*. 2020;11(1):519. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-020-02011-z>.
9. Dehnavi S, Sadeghi M, Tavakol Afshari J, Mohammadi M. Interactions of mesenchymal stromal/stem cells and immune cells following MSC-based therapeutic approaches in rheumatoid arthritis. *Cell Immunology*. 2023;393–394:104771. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2023.104771>.
10. Sarıkaya A, Aydın G, Özyüncü Ö, Şahin E, Uçkan-Çetinkaya D, Aerts-Kaya F. Comparison of immune modulatory properties of human multipotent mesenchymal stromal cells derived from bone marrow and placenta. *Biotechnic & Histochemistry*. 2022;97(2):79–89. DOI: <https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1885739>.
11. Arki MK, Moeinabadi-Bidgoli K, Niknam B, Mohammadi P, Hassan M, Hossein-Khannazer N, et al. Immunomodulatory performance of GMP-compliant, clinical-grade mesenchymal stromal cells from four different sources. *Heliyon*. 2024;10(2):e24948. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24948>.
12. Abumaree MH, Abomaray FM, Alshabibi MA, AlAskar AS, Kalionis B. Immunomodulatory properties of human placental mesenchymal stem/stromal cells. *Placenta*. 2017;59:87–95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2017.04.003>.
13. Mathew SA, Naik C, Cahill PA, Bhonde RR. Placental mesenchymal stromal cells as an alternative tool for therapeutic angiogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2020;77(2):253–265. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03268-1>.
14. Maklakova IYu, Yastrebov AP, Grebnev D Yu. Changing of the morphometric and cytological indexes of the spleen in the condition of acute blood loss on the background of stem cells insertion. *Uspekhi gerontologii*. 2015;28(2):218–221. (In Russ.). EDN: <https://elibrary.ru/UDENCH>.
15. Grebnev DYU, Maklakova IYu, Yastrebov AP. The effect of different doses of HSC during combined transplantation with MSC on the regeneration of myeloid tissue after exposure to ionizing radiation. *Journal of Ural Medical Academic Science*. 2014;(5):73–75. (In Russ.). EDN: <https://www.elibrary.ru/TKZMWB>.
16. Grebnev DYU, Yastrebov AP, Maklakova IYu. Changes in the morphometric parameters of the spleen of old laboratory animals after exposure to ionizing radiation on the background of stem cell transplantation. *Kazan Medical Journal*. 2013;94(6):911–914. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ1818>.
17. Maklakova IYu, Grebnev DYU, Osipenko AV. Influence of combined transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells and stellate liver cells on its morphofunctional state after partial hepatectomy. *Ural Medical Journal*. 2021;20(1):16–22. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.52420/2071-5943-2021-20-1-16-22>.
18. Azarbarz N, Nejaddehbashi F, Khorsandi L, Bijan Nejad D, Sayyahi A. Autophagy enhances the differentiation of insulin-producing cells from Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells. *Tissue and Cell*. 2024;88:102384. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tice.2024.102384>.
19. Verma J, Rai AK, Satija NK. Autophagy perturbation upon acute pyrethroid treatment impacts adipogenic commitment of mesenchymal stem cells. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2023;195:105566. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105566>.
20. Liu S, Yao S, Yang H, Liu S, Wang Y. Autophagy: Regulator of cell death. *Cell Death & Disease*. 2023;14(10):648. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-023-06154-8>.
21. Klionsky DJ, Petroni G, Amaravadi RK, Baehrecke EH, Ballabio A, Boya P, et al. Autophagy in major human diseases. *The EMBO Journal*. 2021;40(19):e108863. DOI: <https://doi.org/10.15252/embj.2021108863>.
22. Molaei S, Roudkenar MH, Amiri F, Harati MD, Bahadori M, Jaleh F, et al. Down-regulation of the autophagy gene, ATG7, protects bone marrow-derived mesenchymal stem cells from stressful conditions. *Blood Research*. 2015;50(2):80–86. DOI: <https://doi.org/10.5045/br.2015.50.2.80>.
23. Gao L, Cen S, Wang P, Xie Z, Liu Z, Deng W, et al. Autophagy improves the immunosuppression of CD4+ T cells by mesenchymal stem cells through transforming growth factor-β1. *Stem Cells Translational Medicine*. 2016;5(11):1496–1505. DOI: <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0420>.
24. Kim KW, Moon SJ, Park MJ, Kim BM, Kim EK, Lee SH, et al. Optimization of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells by rapamycin in a murine model of acute graft-versus-host disease. *Stem Cell Research & Therapy*. 2015;6:202. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0197-8>. Erratum in: *Stem Cell Research & Therapy*. 2016;7(1):80. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0336-x>.

25. Dang S, Yu ZM, Zhang CY, Zheng J, Li KL, Wu Y, et al. Autophagy promotes apoptosis of mesenchymal stem cells under inflammatory microenvironment. *Stem Cell Research & Therapy*. 2015;6:247. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0245-4>.
26. Chen X, Li M, Li L, Xu S, Huang D, Ju M, et al. Trehalose, sucrose and raffinose are novel activators of autophagy in human keratinocytes through an mTOR-independent pathway. *Scientific Reports*. 2016;6:28423. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep28423>.
27. Kim JS, Jang WS, Lee S, Son Y, Park S, Lee SS. A study of the effect of sequential injection of 5-androstenediol on irradiation-induced myelosuppression in mice. *Archives of Pharmacal Research*. 2015;38(6):1213–1222. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12272-014-0483-5>.
28. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*. 2010;1(2):87–93. DOI: <https://doi.org/10.4103/0976-500X.72350>.
29. Yu H, Zhang T, Lu H, Ma Q, Zhao D, Sun J, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mediates bone resorption in periodontitis. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):299. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01658-1>.
30. Durandt C, van Vollenstee FA, Dessels C, Kallmeyer K, de Villiers D, Murdoch C, et al. Novel flow cytometric approach for the detection of adipocyte subpopulations during adipogenesis. *Journal of Lipid Research*. 2016;57(4):729–742. DOI: <https://doi.org/10.1194/jlr.D065664>.
31. Chinnadurai R, Forsberg MH, Kink JA, Hematti P, Capitini CM. Use of MSCs and MSC-educated macrophages to mitigate hematopoietic acute radiation syndrome. *Current Stem Cell Reports*. 2020;6(3):77–85. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40778-020-00176-0>.
32. Schroeder T. Hematopoietic stem cell heterogeneity: subtypes, not unpredictable behavior. *Cell Stem Cell*. 2010;6(3):203–207. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.02.006>.
33. Du J, He H, Li Z, He J, Bai Z, Liu B, et al. Integrative transcriptomic analysis of developing hematopoietic stem cells in human and mouse at single-cell resolution. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2021;558:161–167. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.04.058>.
34. Wilson NK, Kent DG, Buettner F, Shehata M, Macaulay IC, Calero-Nieto FJ, et al. Combined single-cell functional and gene expression analysis resolves heterogeneity within stem cell populations. *Cell Stem Cell*. 2015;16(6):712–724. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.04.004>.
35. Kostjunina VS, Petyovka NV, Potapnev MP. Different expression of hematopoietic-supporting genes in cord, placental and bone marrow mesenchymal stromal cells. *Genes & Cells*. 2015;10(1):61–68. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.23868/gc120484>.
36. Lamark T, Johansen T. Aggrephagy: Selective disposal of protein aggregates by macroautophagy. *International Journal of Cell Biology*. 2012;2012:736905. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/736905>.
37. de la Cruz López KG, Toledo Guzmán ME, Sánchez EO, García Carrancá A. mTORC1 as a regulator of mitochondrial functions and a therapeutic target in cancer. *Frontiers in Oncology*. 2019;9:1373. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01373>.

Информация об авторах

Владислав Александрович Иванов  — аспирант кафедры патологической физиологии, институт фундаментальной медицины, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия; терапевт терапевтического отделения № 11, Свердловский областной клинический психоневрологический госпиталь для ветеранов войн, Екатеринбург, Россия.

E-mail: vlanov123@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7475-9517>

Дмитрий Юрьевич Гребнев — доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической физиологии, институт фундаментальной медицины, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия; старший научный сотрудник лаборатории антивозрастных технологий, Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия.

E-mail: dr-grebnev77@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5698-8404>

Ирина Юрьевна Маклакова — доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой нормальной физиологии, институт фундаментальной медицины, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия; старший научный сотрудник лаборатории антивозрастных технологий, Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия.

E-mail: makliu@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6895-7947>

Владимир Викторович Базарный — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры патологической физиологии, главный научный сотрудник отдела общей патологии центральной научно-исследовательской лаборатории, директор института фундаментальной медицины, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия.

E-mail: vlad-bazarny@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0966-9571>

Лариса Георгиевна Полушина — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела общей патологии центральной научно-исследовательской лаборатории, институт фундаментальной медицины, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия.

E-mail: polushina-larisa@bk.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4921-7222>

Information about the authors

Vladislav A. Ivanov [✉] — Postgraduate Student of the Department of Pathologic Physiology, Institute of Fundamental Medicine, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia; Therapist of the Therapeutic Department No. 11, Sverdlovsk Regional Clinical Neuropsychiatric Hospital for War Veterans, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: vianov123@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7475-9517>

Dmitry Y. Grebnev — Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Pathological Physiology, Institute of Fundamental Medicine, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia; Senior Researcher of the Laboratory of Anti-Aging Technologies, Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: dr-grebnev77@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5698-8404>

Irina Y. Maklakova — Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Institute of Fundamental Medicine, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia; Senior Researcher of the Laboratory of Anti-Aging Technologies, Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: makliu@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6895-7947>

Vladimir V. Bazarnyi — Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Professor of the Department of Pathological Physiology, Chief Researcher of the Department of General Pathology of the Central Research Laboratory, Director of the Institute of Fundamental Medicine, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: vlad-bazarny@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0966-9571>

Larisa G. Polushina — Candidate of Sciences (Medicine), Senior Researcher of the Department of General Pathology of the Central Research Laboratory, Institute of Fundamental Medicine, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: polushina-larisa@bk.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4921-7222>

Рукопись получена: 8 декабря 2024. Одобрена после рецензирования: 30 января 2025. Принята к публикации: 21 апреля 2025.

Received: 8 December 2024. Revised: 30 January 2025. Accepted: 21 April 2025.