

К 80-летию института биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича

ОБЗОР

ЭФФЕРОЦИТОЗ КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ РЕАЛИЗАЦИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Г.А. Блинова, К.Н. Ярыгин, И.В. Холоденко*

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10; *e-mail: irkhol@yandex.ru

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) способны стимулировать регенерацию и проявлять уникальные иммуномодулирующие свойства, что делает их привлекательными для использования в клеточной терапии широкого спектра патологий. Использование МСК в клинике сдерживается недостаточно чётким пониманием механизмов их терапевтического действия. Доказано, что МСК после трансплантации быстро погибают в организме реципиента по механизму апоптоза и подвергаются клиренсу профессиональными фагоцитами, такими как макрофаги, а также непрофессиональными фагоцитирующими клетками, в том числе эндотелиальными клетками, гепатоцитами и резидентными стволовыми клетками различных тканей, в том числе МСК. Захват и процессинг апоптотических клеток фагоцитами получил название эффероцитоз. Несмотря на быструю элиминацию пересаженных клеток, трансплантация МСК в большинстве случаев приводит к положительным терапевтическим эффектам. Клиренс апоптотических МСК оказывает влияние на фагоциты, изменяя их фенотип, секретом и дальнейшее поведение. В обзоре рассмотрены базовые молекулярные механизмы эффероцитоза, клиренс апоптотических МСК и их терапевтические эффекты при различных патологиях в контексте их эффероцитоза различными типами фагоцитов.

Ключевые слова: эффероцитоз; апоптоз; мезенхимные стволовые клетки; воспаление; регенерация; иммуномодуляция

DOI: 10.18097/BMCRM00221

ВВЕДЕНИЕ

Мезенхимные стволовые (или стромальные) клетки (МСК) обладают набором свойств, делающих их очень привлекательным материалом при разработке технологий клеточной терапии широкого круга болезней. Однако использование МСК в клинике сдерживается недостаточно чётким пониманием клеточных и молекулярных механизмов их терапевтического действия. При этом количество опубликованных данных огромно и их углублённый анализ может существенно улучшить ситуацию. В данном обзоре мы рассматриваем роль апоптоза МСК в реализации их терапевтических эффектов с акцентом на финальную стадию этого варианта клеточной гибели — эффероцитоз.

Апоптоз — одна из форм программируемой клеточной гибели — имеет огромное физиологическое значение. На протяжении всей жизни, начиная с эмбриональной стадии и до старения, апоптоз является неотъемлемым компонентом развития и поддержания гомеостаза организма. Апоптоз исключительно важен для морфогенеза, удаления клеток, повреждённых вследствие химического, физического или механического воздействия, генетически дефектных и потенциально опасных трансформированных и/или аутореактивных клеток, а также для поддержания нормального количества клеток в тканях [1]. Например, у эмбрионов позвоночных апоптоз участвует в развитии

нервной системы и сенсорных органов [2–4]. Классическим примером участия в морфогенезе является апоптоз клеток межпальцевых перепонки с целью формирования отдельных пальцев [1]. Физиологический апоптоз, происходящий в незрелых семенниках, необходим для созревания ткани, а его ингибирование сопровождается накоплением сперматогоний и бесплодием в более позднем возрасте [5]. На протяжении менструального цикла клетки эндометрия удаляются путём апоптоза, что является ключевым феноменом предстоящего ремоделирования ткани, которое происходит в эндометрии при переходе от секреторной к пролиферативной фазе после менструации [6]. Колоссальную роль апоптоз играет в развитии и функционировании клеток иммунной системы. Так, например, во время развития Т-лимфоцитов апоптозу подвергаются те клетки, которые обладают нефункциональными или аутореактивными Т-клеточными рецепторами. Нарушение этого механизма элиминации иммунных клеток приводит к развитию иммунодефицитных и аутоиммунных состояний [7–9]. Развитие множества патологий ассоциировано именно с нарушением апоптоза и/или баланса между апоптозом и пролиферацией клеток. К таким патологиям относятся как редкие заболевания, например, синдактилия [10] и дефект развития нервной трубки [11], так и более распространённые, включая онкологические заболевания [12].



В норме в организме ежедневно за счёт апоптоза гибнут миллиарды клеток как вследствие физиологических процессов, описанных выше, так и вследствие воздействия различных стрессорных факторов, например, γ -излучения, действия химических соединений, теплового или холодового шоков и т.д. Поэтому исключительно важно избавляться от погибших клеток с целью поддержания тканевого гомеостаза и предотвращения высвобождения клеточного содержимого в окружающие ткани, поскольку это грозит развитием воспаления [13]. Клиренс апоптотических клеток, или эффероцитоз, осуществляют профессиональные (макрофаги, дендритные клетки) и непрофессиональные (эпителиоциты, эндотелиоциты, гепатоциты и др.) фагоциты. Эти клетки в данном контексте называются эффероцитами. Эффероцитоз является завершающей стадией апоптоза и необходим для поддержания гомеостаза и репарации тканей [14].

Доказана роль эффероцитоза в восстановлении тканей после повреждения. Так, например, при повреждении мышц провоспалительные моноциты проникают в повреждённую область и становятся провоспалительными макрофагами, которые стимулируют пролиферацию мышечных стволовых клеток. Эти провоспалительные макрофаги, эффероцитируя дебрис мышечных клеток, поляризуются в противовоспалительные макрофаги, которые стимулируют миогенез и образование новых функциональных миофибрилл [15]. При различных патологиях печени эффероцитоз также играет важную репаративную роль. Хроническое воспаление, ассоциированное с ожирением и приводящее к развитию неалкогольной жировой болезни печени [16], на ранних стадиях сдерживается именно за счёт эффероцитоза гепатоцитов, погибших вследствие липотоксичности, резидентными макрофагами, что поддерживает иммунный гомеостаз в печени и при снижении липидной нагрузки не позволяет развиваться заболеванию [17]. Zhang и соавт. предположили, что макрофаги используют полученные из эффероцитированных клеток метаболиты для противовоспалительного репрограммирования, которое и приводит к восстановлению органов и тканей [18]. Похожий механизм был показан и для нейтрофилов, эффероцитирующих апоптотические тельца, сформировавшиеся из гепатоцитов после частичной гепатэктомии и попавшие в кровотоки. Эффероцитоз нейтрофилами таких циркулирующих апоптотических телец приводил к их активации, однако без развития классических воспалительных реакций. Вместо этого эффероцитирующие нейтрофилы высвобождали различные факторы роста, включая фактор роста фибробластов-2 и фактор роста гепатоцитов, которые способствовали регенерации печени [19].

Помимо эндогенного репаративного механизма эффероцитоз также рассматривается в качестве одного из способов реализации регенеративных эффектов стволовых клеток, трансплантируемых при различных патологических состояниях [20]. Наиболее изученными в данном контексте стволовыми

клетками, подвергающимися эффероцитозу после трансплантации, являются МСК. Достоверно доказано, что МСК при введении в организм реципиента просуществовали в нём не более 7 дней, и в последующем сигнал от них не детектировался, что связано с гибелью трансплантированных клеток по механизму апоптоза [21]. Несмотря на столь быструю гибель МСК, их трансплантация в большинстве случаев приводит к положительным терапевтическим эффектам [22]. Так же, как и другие апоптотические клетки, апоптотические МСК элиминируются при помощи эффероцитоза. Что особенно интересно, процесс клиренса апоптотических МСК влияет на фагоциты, осуществляющие этот процесс. Это влияние проявляется в изменении их фенотипа, секретомы или дальнейшего поведения фагоцита. В совокупности это влияет на протекание и исход заболевания [23]. В данном обзоре рассмотрены базовые молекулярные механизмы эффероцитоза, клиренс апоптотических МСК и их терапевтические эффекты при различных патологиях в контексте их эффероцитоза различными типами фагоцитов.

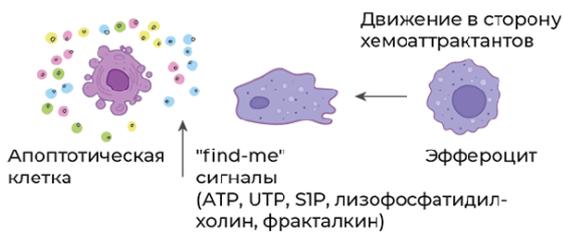
1. МЕХАНИЗМ ЭФФЕРОЦИТОЗА

Эффероцитоз (лат. *efferro* — захоронить) представляет собой частный случай фагоцитоза и направлен на фагоцитирование апоптотических клеток/телец без вовлечения иммунного ответа. Эффероцитоз можно разделить на несколько стадий: 1) распознавание эффероцитом апоптотической клетки; 2) взаимодействие эффероцита с апоптотической клеткой; 3) интернализация апоптотической клетки; 4) деградация апоптотической клетки внутри эффероцита. Схематически этапы эффероцитоза представлены на рисунке 1.

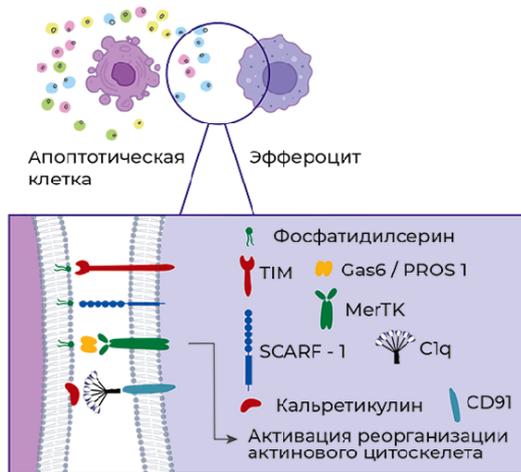
Распознавание апоптотической клетки эффероцитом происходит за счёт так называемых “find-me” сигналов — молекул, высвобождаемых клетками при апоптозе, включая нуклеотиды (АТФ, УТФ), липиды (сфингозин-1-фосфат, лизофосфатидилхолин) и хемокин фракталкин (CX3CL1). “Find-me” сигналы являются хемоаттрактантами для эффероцитов [14, 24].

После обнаружения апоптотической клетки эффероциту предстоит совершить выбор — фагоцитировать её или нет. На жизнеспособных клетках экспрессируются так называемые “don't eat me” сигналы (CD31, CD46, CD47) для предотвращения поглощения их фагоцитами; однако на апоптотических клетках происходит одновременная экспрессия “don't eat me” и “eat me” сигналов (к числу последних относятся фосфатидилсерин, кальрегулин) [25]. В связи с этим апоптотической клетке требуется избавиться или снизить экспрессию “don't eat me” сигналов для её успешного поглощения эффероцитом. CD47 является наиболее изученным и широко распространённым “don't eat me” сигналом, который экспрессируется практически на всех клетках организма. Этот трансмембранный гликопротеин, относящийся к семейству иммуноглобулинов, взаимодействует с иммунорецептором SIRP α , экспрессируемым на поверхности макрофагов,

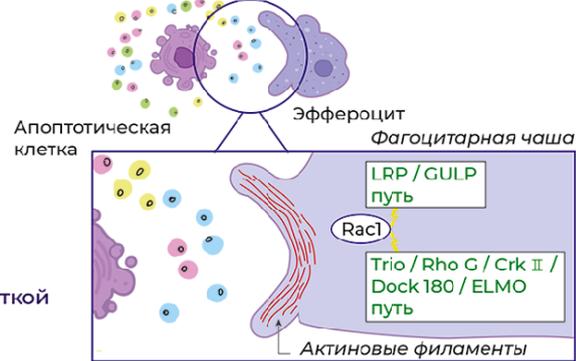
1. Распознавание апоптотической клетки эффероцитом



2. Взаимодействие эффероцита с апоптотической клеткой



3. Интернализация апоптотической клетки



4. Деграция апоптотической клетки внутри эффероцита

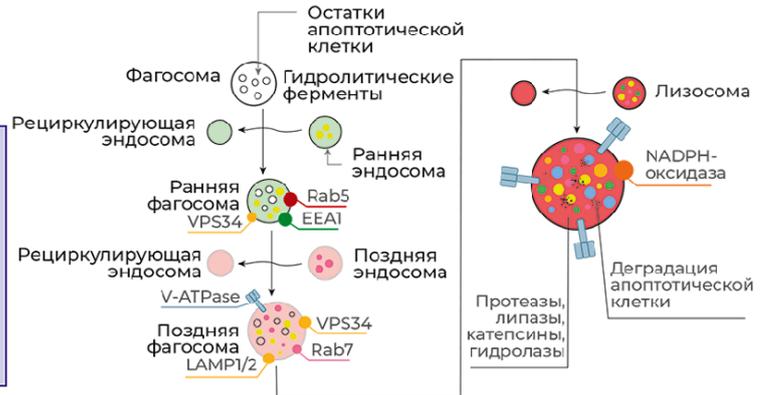


Рисунок 1. Этапы эффероцитоза апоптотической клетки. Описание в тексте.

иницируя ингибирующие сигналы, которые предотвращают фагоцитоз макрофагами здоровых клеток. Индукция апоптоза приводила к снижению CD47 и CD31 на некоторых типах клеток, что активировало их эффероцитоз [26], однако полное отсутствие CD47 на клеточной мембране полностью предотвращало эффероцитоз [27]. Lv с соавт. показали, что не столько снижение экспрессии, сколько изменение локализации CD47 на плазматической мембране апоптотических клеток делает их доступными для эффероцитов [28]. Авторы продемонстрировали, что уровень CD47 на клеточной поверхности не снижался, но характер распределения CD47 изменялся во время апоптоза. В неапоптотических клетках молекулы CD47 группируются в липидных рафтах, тогда как в апоптотических клетках молекулы CD47 диффундируют по плазматической мембране вне рафтов. Кластеризация CD47 в липидных рафтах обеспечивает высокую avidность связывания с SIRP α на макрофагах, который также представлен в виде кластеров, что вызывает предотвращение фагоцитоза. Напротив, диспергирование CD47 на поверхности апоптотических клеток ассоциировано со значительным снижением avidности связывания с SIRP α и неспособностью запустить передачу ингибирующего сигнала. Таким образом, CD47 обычно кластеризуется в липидных рафтах на неапоптотических клетках, но диффундирует в плазматическую мембрану, когда происходит апоптоз; эта транслокация CD47 значительно снижает силу взаимодействия CD47-SIRP α ,

что приводит к фагоцитозу апоптотических клеток [28]. В настоящее время ось CD47-SIRP α рассматривается в качестве многообещающей терапевтической мишени в терапии широкого спектра заболеваний, ассоциированных с нарушением фагоцитоза/эффероцитоза, таких как неалкогольный стеатогепатит [29], сердечно-сосудистые [30], онкологические заболевания [31, 32], заболевания, ассоциированные со старением [33].

В случае снижения экспрессии и/или перераспределения в плазматической мембране "don't eat me" сигналов для эффероцита становятся доступными "eat-me" сигналы, которые позволяют ему прикрепиться к апоптотической клетке. Классическим "eat me" сигналом является фосфатидилсерин, транслоцирующийся с внутреннего на внешний монослой плазматической мембраны в процессе апоптоза за счёт механизма "flip-flop" [34], что делает его доступным для распознавания эффероцитом. Фосфатидилсерин на апоптотической клетке может распознаваться либо напрямую за счёт рецепторов, экспрессируемых на фагоцитах, таких как TIM (T-cell immunoglobulin and mucin domain receptor) (TIM-1, TIM-3, TIM-4) и SCARF-1 (scavenger receptor class F, member 1), либо через специфические растворимые молекулы-мостики, такие как белок S (PROS), Gas6 и MFG-E8, которые связываются одновременно с фосфатидилсерином на апоптотической клетке и рецепторными киназами TAM (Tyro3-Axl-MerTK) семейства, включая TYRO3, AXL и MerTK на фагоцитах.

Например, MerTK связывается с фосфатидилсеринем через такие молекулы-мостики, как Gas6 или белок S (PROS1) [35]. Кальретикулин (кальрегулин), ещё один “eat me” сигнал, в норме находится в эндоплазматическом ретикулуме, транслоцируется на поверхность апоптотической клетки и играет важную роль в апоптотическом клиренсе [36], что обусловлено его способностью связываться с белком CD91 (также известным как белок, связанный с рецептором белка низкой плотности, LRP-1), экспрессируемым на макрофагах, а также с компонентом комплемента C1q и маннозосвязывающим лектином (MBL). C1q и MBL — структурно и функционально схожие белки, члены семейства “защитного коллагена” — представляют собой молекулы распознавания образов (pattern recognition molecules), которые могут запускать быстрый усиленный фагоцитоз, что приводит к эффективному сдерживанию патогенов или удалению клеточного мусора, апоптотических клеток и иммунных комплексов [37]. Структурно оба белка представляют собой полипептиды, С-конец которых представлен глобулярным доменом, выполняющим функцию лектина, т.е. связывается с углеводами на поверхности патогенов и/или повреждённых и апоптотических клеток, тогда как N-конец представляет собой коллаген-подобный домен (повторяющиеся триплеты Gly-X-Y, где X часто представляет собой пролин, а Y — гидроксипролин или гидроксипролин) [37]. Таким образом, взаимодействуя с апоптотическими клетками, C1q и MBL действуют как опсоины [38]. После прикрепления C1q или MBL к апоптотической клетке кальретикулин, экспрессированный на её поверхности, связывается с коллагеновыми доменами обоих белков, а также с CD91 на поверхности макрофагов, способствуя вовлечению этого рецептора и стимулируя фагоцитоз. Эта серия событий инициирует макропиноцитоз, который приводит к поглощению апоптотической клетки [39]. Также “eat-me” сигналом служит снижение количества сиаловых кислот на мембране апоптотической клетки, которые в норме экранируют остатки сахаров гликокаликса, защищая от связывания их с лектиновыми рецепторами макрофагов [40].

Как только эффероцит прикрепился к апоптотической клетке, запускается процесс, направленный на реорганизацию актинового цитоскелета и последующее поглощение апоптотической клетки. Реорганизация актиновых филаментов направлена на формирование фагоцитарной чаши, которая за счёт выростов плазматической мембраны фагоцита окружает апоптотическую клетку и постепенно замыкается, формируя фагосому. Внутриклеточный сигналинг, управляющий формированием фагоцитарной чаши и разрастанием отростков вокруг апоптотической клетки, включает два потенциально избыточных, эволюционно консервативных пути, включающих LRP/GULP и Trio/RhoG/CrkII/Dock180/ELMO, которые могут действовать согласованно в регуляции активации Rac1 (белок из семейства Rho GTPаз), который является ключевым регулятором актинового цитоскелета в процессе интернализации

апоптотической клетки [41]. После активации через любой из двух путей Rac1 индуцирует локализованную полимеризацию актина. Первый этап полимеризации актина известен как “нуклеация”. На этом этапе формируется актиновое ядро, которое, по существу, представляет собой комплекс из трёх актиновых мономеров, из которого может удлиниться актиновая нить. Rac1 активирует факторы семейства WASP, SCAR и WAVE, которые рекрутируют комплекс ARP2/3 и функционируют вместе, чтобы создать ядро нуклеации актина. Помимо формирования ядра нуклеации для полимеризации актина *de novo*, комплекс ARP2/3 связывает актиновые нити, обеспечивая синтез нового актина, сохраняя при этом формирование сети и разветвление актина — процессы, которые необходимы для образования фагосом [14]. Выросты мембраны замыкаются над апоптотической клеткой и, таким образом, формируется фагосома.

Фагосома, содержащая апоптотическую клетку, претерпевает созревание в цитоплазме эффероцита. Созревание фагосомы включает в себя несколько последовательных стадий, в конечном итоге приводящих к деградации апоптотической клетки: ранняя фагосома, поздняя фагосома и фаголизосома. Созревающая фагосома сливается с ранней эндосомой при помощи GTPазы Rab5 [42]. Rab5-содержащая ранняя фагосома рекрутирует ранний эндосомальный антиген 1 EEA1 (early endosome antigen 1), способствующий слиянию фагосомы с ранними эндосомами [43, 44]. При созревании фагосомы не формируется огромная везикула, т.к. происходит постоянное отпочковывание рециркулирующих эндосом от созревающей фагосомы. Основная роль ранних эндосом заключается в сортировке различных белков и липидов в компартменты рециркуляции и деградации. Следовательно, слияние фагосомы с ранней эндосомой необходимо для того, чтобы мембранные липиды и белки, участвовавшие в формировании фагосомы, смогли рециркулировать обратно в цитоплазматическую мембрану при помощи рециркулирующих малых эндосом, отпочковывающихся от ранней эндосомы. Кроме того, ранние эндосомы получают мембранные белки и гидролитические ферменты за счёт слияния секреторных везикул из сети транс-Гольджи, что важно для процесса созревания эндосом и, как следствие, слившихся с ними фагосом [45]. Rab5 также рекрутирует фосфатидилинозитол-3-киназу класса III (VPS34), катализирующую образование фосфатидилинозитол-3-фосфата [46]. Фосфатидилинозитол-3-фосфат способствует закреплению EEA1 на цитозольной поверхности созревающей фагосомы, что позволяет рекрутировать ещё одну GTPазу Rab7 [47]. Rab7 способствует слиянию фагосомы с поздней эндосомой, в это же время фагосома избавляется от Rab5. Этот переход осуществляется при помощи комплекса HOPS (vpsC-homotypic protein-sorting complex) [47]. GTPаза Rab7 — это маркер следующей стадии созревания фагосомы — стадии поздней фагосомы. GTPаза Rab7 необходима для рекрутирования RILP (Rab-interacting lysosomal protein), который связывается

с динеин-динактиновым комплексом для ускоренного перемещения поздней фагосомы в цитоплазме [48]. На мембране накапливаются молекулы V-АТРаза (vacuolar ATPase), которые закачивают протоны H^+ в фагосому и, тем самым, закисляют её [49]. Также на поздней фагосоме после слияния с поздней эндосомой появляются люминальные протеазы LAMP-1 и LAMP-2 (Lysosome-associated membrane proteins 1 and 2), которые способствуют слиянию поздней фагосомы с лизосомой, вследствие чего образуется фаголизосома [48, 50]. Фаголизосома содержит различные ферменты: протеазы, липазы, катепсины, гидролазы и NADPH-оксидазу, синтезирующую АФК (активные формы кислорода) [49]. V-АТРаза закисляет фагосому до оптимального значения pH, необходимого для работы протеолитических ферментов (pH 4.5–5.0), способствуя, тем самым, эффективной деградации апоптотических клеток.

2. БАЗОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МСК И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

МСК — фибробластоподобные негемопозитические клетки, представляющие собой гетерогенную популяцию и соответствующие трём минимальным критериям: 1) адгезии к пластику при поддержании в стандартных условиях культивирования; 2) экспрессии поверхностных маркеров, включая CD73, CD90, CD105, и отсутствию экспрессии гемопозитических маркеров, таких как CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79a или CD19 и HLA-DR; 3) способности дифференцироваться в клетки мезодермального ряда *in vitro*, остеобласты, адипоциты и хондробласты [51]. МСК присутствуют практически во всех тканях фетального и взрослого организмов и, соответственно, легко могут быть выделены из таких источников, как костный мозг, жировая ткань [52], периферическая [53] и менструальная [54] кровь, ткань эндометрия [55], пульпа зуба [56], экстраэмбриональные органы, включая пупочный канатик, пуповинную кровь, желе Вартона, ткани плаценты [57].

Уникальность МСК заключается в их обширном терапевтическом потенциале при различных патологических состояниях, доказанная в огромном количестве экспериментов на животных моделях заболеваний, а также в клинических испытаниях [58–60]. Примечательно, что не только сами МСК, но и их так называемые производные, включая экстраклеточные везикулы (экзосомы, апоптотические тельца), секретируемые растворимые факторы в составе кондиционированных сред, оказывают схожие терапевтические эффекты [20]. После трансплантации МСК и/или их производные стимулируют регенерацию повреждённых тканей, ангиогенез, оказывают антифибротическое и иммуномодулирующее действие. Терапевтическая эффективность МСК была показана для таких групп заболеваний, как сердечно-сосудистые [61, 62], нейродегенеративные [63], аутоиммунные [64, 65], различные патологии печени [66, 67] и желудочно-кишечного тракта [68] и др.

Несмотря на столь глубокие и масштабные исследования, точные механизмы, лежащие в основе терапевтического действия МСК, остаются до конца не выясненными. Наиболее вероятным механизмом считается паракринный эффект этих клеток, связанный с секрецией широкого спектра цитокинов, хемокинов, ростовых факторов, а также с продукцией экстраклеточных везикул, нагруженных различными РНК, белками, липидами, которые осуществляют полезную коммуникацию между клетками [69].

3. АПОПТОЗ МСК *IN VIVO*

Изначально считалось, что МСК оказывают терапевтические эффекты при введении в организм реципиента благодаря своему дифференцировочному потенциалу, т.е. замещая повреждённые/погибшие клетки. В ходе дальнейших исследований выяснилось, что МСК способны взаимодействовать с другими клетками и секретировать паракринные факторы, оказывающие влияние на повреждённую ткань. Однако в последующем стало очевидным, что МСК в организме реципиента персистируют непродолжительное время [70]. В итоге, исследователи пришли к выводу, что после трансплантации МСК подвергаются апоптозу независимо от способа их введения и степени их совместимости с реципиентом (ксеногенные, аллогенные или сингенные) [71].

Внутривенное введение — самый распространённый способ трансплантации МСК, в результате которого трансплантированные клетки “застревают” в капиллярах лёгких, где подвергаются апоптозу и элиминируются макрофагами в течение нескольких дней [21, 70]. Например, после внутривенного введения флуоресцентный сигнал от мышинных сингенных костномозговых МСК детектировался в течение 7 дней, так же, как и после введения в поджелудочную железу и подкожно, т.е. локально, причём МСК незначительно мигрировали из места их введения [21].

Несмотря на доказанность факта наличия апоптоза МСК после их трансплантации, относительно мало известно о физиологических индукторах и путях клеточной гибели трансплантированных клеток *in vivo*. При подкожном введении МСК формируют клеточные агрегаты, внутри которых создаются гипоксические условия и активируется HIF-1 α -сигнальный путь. При этом, чем выше уровень гипоксии внутри такого клеточного агрегата, тем ниже жизнеспособность клеток [72]. Таким образом, гипоксия и дефицит питательных веществ могут являться одним из механизмов индукции апоптоза МСК после трансплантации, по крайней мере, в условиях локального введения [73, 74].

В индукции апоптоза трансплантированных МСК активное участие принимают различные типы иммунокомпетентных клеток реципиента. Например, в мышинной модели реакции трансплантат-против-хозяина (РТПХ) трансплантированные чужеродные МСК подвергались апоптозу по МНС-независимому антиген-неспецифичному перфорин-гранзимовому

механизму, который реализовывался за счёт активированных цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов и CD56⁺ NK клеток. Не активированные Т- и NK клетки не индуцировали клеточную гибель МСК ни *in vivo*, ни *in vitro* [75]. В качестве наиболее очевидного механизма индукции апоптоза трансплантированных МСК чаще всего рассматривают классический Fas/FasL-путь. Это связано с тем, что МСК характеризуются высоким уровнем Fas (CD95) на своей поверхности; он служит рецептором соответствующего лиганда FasL, который в свою очередь экспрессируется иммунными клетками, включая Т-лимфоциты и NK клетки. В ранних работах было показано, что активированные Т-лимфоциты способны запускать апоптоз МСК именно по Fas/FasL-пути. В частности, на модели остеопороза было показано, что костномозговые МСК не дифференцируются в остеокласты из-за гибели, индуцированной активированными Т-лимфоцитами через Fas/FasL [76]. Fas-индуцированный апоптоз наблюдался в МСК после трансплантации в ишемизированном миокарде [77]. Здесь стоит отметить, что ишемия ткани сопровождается гипоксией; в таких условиях кардиомиоциты начинают секретировать высокие уровни FasL, а на поверхности МСК возрастает экспрессия Fas. Кроме того, гипоксия приводит к повышенной генерации АФК в МСК, что делает их более чувствительными к Fas-индуцированному апоптозу. В нормальных условиях, в отсутствие повышенной продукции АФК, МСК проявляли устойчивость к клеточной гибели, индуцированной FasL [77]. В целом, пока остаётся не выясненным вопрос, касающийся чувствительности/устойчивости МСК к апоптозу, индуцированному через Fas, поскольку в экспериментах *in vitro* были получены противоречивые данные. Например, Кеппеа с соавт. показали, что человеческие МСК, выделенные из фетальной крови, отвечают как на стауроспорин, так и на FasL дозозависимым увеличением апоптоза [78]. Стауроспорин — ингибитор протеинкиназ [79] — в данном случае использовался в качестве стрессового стимула, который, как известно, активирует митохондриальный путь клеточной гибели [79], а связывание Fas использовалось для проверки передачи сигнала через рецептор смерти. Эти результаты свидетельствуют о том, что в человеческих фетальных МСК могут быть активированы оба классических апоптотических пути [78]. С другой стороны, Götherström с соавт. продемонстрировали, что человеческие фетальные печёночные МСК были в большей степени чувствительны к TRAIL-индуцированному апоптозу, но не к апоптозу, индуцированному через Fas, по сравнению с человеческими взрослыми костномозговыми МСК [80]. Взрослые печёночные МСК также оказались устойчивы к Fas-индуцированному апоптозу в широком диапазоне концентраций FasL и анти-Fas антител [81]. В иммортализованных человеческих костномозговых МСК FasL индуцировал повышенную продукцию АФК, которые и служили стимулом к апоптозу. В присутствии антиоксиданта N-ацетил цистеина МСК не отвечали

на FasL продукцией АФК и, следовательно, не подвергались апоптозу [82]. По некоторым данным, FasL в зависимости от дозы может оказывать плейотропные эффекты на МСК, не только индуцирует апоптоз, но стимулирует пролиферацию и поддерживает стволовое состояние [83]. Помимо CD95 (Fas) МСК экспрессируют, по меньшей мере, ещё два рецептора смерти DR4 и DR5, лигандом которых является TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) [84, 85]. TRAIL может взаимодействовать с четырьмя мембраносвязанными рецепторами (DR4/TRAIL-R1, DR5/TRAIL-R2, DcR1/TRAIL-R3 и DcR2/TRAIL-R4), но только DR4 и DR5 содержат консервативный цитоплазматический регион, называемый доменом смерти (death domain (DD)), который необходим для проведения апоптотического сигнала после связывания TRAIL [86]. Szegezdi с соавт. показали, что сигнализация через DR4 и DR5 в человеческих костномозговых и пуповинных МСК была полностью заблокирована, что делало их устойчивыми к TRAIL-индуцированному апоптозу даже при высоких дозах лиганда (500 нг/мл) [84]. С другой стороны, в МСК, выделенных из фетальной крови, полностью заблокирован был только DR4, тогда как после связывания с DR5 апоптотическая сигнализация происходила [84]. Подобная устойчивость МСК к рецептор-опосредованному апоптозу может быть связана с высокой экспрессией в этих клетках антиапоптотических белков, включая c-FLIP, bcl-2, и низкой экспрессией проапоптотических белков, в частности, прокаспазы-8. Таким образом, до настоящего момента остаётся неизвестным, что же является триггером индукции апоптоза МСК после трансплантации. Тем не менее, очевиден тот факт, что гибель трансплантированных клеток является обязательным этапом последующих событий, приводящих в конечном итоге к терапевтическому эффекту.

4. ЭФФЕРОЦИТОЗ МСК ОКАЗЫВАЕТ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ

МСК, подвергшиеся апоптозу после трансплантации, эффероцитируются профессиональными (макрофаги, дендритные клетки) или непрофессиональными (эндотелиоциты, эпителиальные клетки, гепатоциты и другие соматические клетки) фагоцитами, которые являются клеточными посредниками в реализации терапевтических эффектов МСК. Например, в мышинной модели реакции трансплантат-против-хозяина (РТПХ) апоптотические МСК, введённые интраперитонеально, в основном эффероцитировались CD11b⁺ и CD11c⁺ фагоцитами в дренирующих брюшину лимфатических узлах, но не детектировались в лёгких и селезёнке. Напротив, при внутривенном введении в лёгких обнаружилось несколько популяций фагоцитов CD11b^{high}CD11c^{int}, CD11b^{high}CD11c⁻ и CD11b⁻CD11c⁺, которые поглощали апоптотические МСК [75]. Примечательно, что эффероцитированные апоптотические МСК приводили к повышению продукции индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO, indoleamine-2,3-dioxygenase)

фагоцитами после интраперитонеального, но не внутривенного введения, что вызывало выраженный иммуносупрессивный эффект в модели РТПХ [75]. IDO является катаболическим ферментом, участвующим в деградации незаменимой аминокислоты триптофана. Расщепляя ароматическое индольное кольцо триптофана, IDO инициирует выработку различных продуктов распада триптофана, называемых “кинуренинами”, которые выполняют важные иммунорегуляторные функции [87]. Viktorimana с соавт. на мышинной модели РТПХ показали, что выраженный иммуносупрессивный эффект оказывала CD146^{high} субпопуляция костномозговых МСК, но не CD146^{low} клетки, трансплантированные интраперитонеально. Авторы предполагают, что этот эффект связан с лучшим эффероцитозом CD146^{high} МСК CD11b^{high} миелоидными клетками, и предлагают считать маркер CD146 “eat me” сигналом [88].

Ещё одним способом иммунорегуляции, ассоциированной с эффероцитозом апоптотических МСК, является поляризация эффероцитирующих макрофагов в противовоспалительный M2 фенотип [89]. M2 макрофаги характеризуются противовоспалительным профилем цитокиновой секреции. В частности, M2 макрофаги продуцируют высокие уровни IL-10 и TGF- β , и низкие уровни IL-12; для них также характерна секреция аргиназы-1 (Arg-1), которая снижает выработку NO за счёт ограничения биодоступности внутриклеточного L-аргинина, что приводит к ослаблению воспалительного повреждения тканей, и хемокинов CCL17, CCL24 и др. [90, 91]. Благодаря такому профилю секреции, M2 макрофаги способствуют регенерации ткани и заживлению ран, обладают проангиогенным свойством за счёт секреции фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF), а также высокой способностью к фагоцитозу [89]. Апоптотические МСК, индуцируя M2 поляризацию макрофагов, т.е. переключение провоспалительного M1 фенотипа в противовоспалительный M2 фенотип, также стимулировали повышенную экспрессию в макрофагах Arg-1 и MerTK (Mer-tyrosine kinase), что способствовало снижению аллостимуляторной активности таких M2 макрофагов в смешанной культуре с Т-лимфоцитами [92], что говорит о способности макрофагов модулировать адаптивный Т-клеточный ответ. Поляризации макрофагов в M2 фенотип способствует сфингозин-1-фосфат (S1P), высвобождаемый апоптотическими клетками, который взаимодействует с рецептором S1PR1 на макрофагах, а также выполняет функцию хемоаттрактанта для регенеративных/ранозаживляющих макрофагов, способствуя их миграции в очаг воспаления [93, 94]. S1P запускает эритропозин-сигнальный путь, приводящий к повышенной экспрессии MerTK на макрофагах, что способствует клиренсу апоптотических клеток [95].

Моноциты, выделенные из периферической крови человека, эффективно поглощали апоптотические МСК, которые были получены путём индукции Fas-зависимого апоптоза

человеческих пуповинных МСК. Это приводило к появлению иммуносупрессорного фенотипа. После фагоцитоза апоптотических МСК человеческие классические CD14⁺⁺CD16⁻ моноциты поляризовались в неклассический CD14⁺⁺CD16⁻CD206⁺ фенотип и начинали экспрессировать PD-L1 (programmed death ligand-1) и IL-10, тогда как экспрессия TNF- α существенно снижалась. Такие моноциты, эффероцитировавшие апоптотические МСК, индуцировали формирование Foxp3⁺ регуляторных Т-клеток *in vitro* [96]. Кроме того, моноциты, поглотившие апоптотические МСК, вызывали подавление пролиферации Т-лимфоцитов, активированных через CD3/CD28, за счёт повышенной секреции IDO, COX2 (циклооксигеназа 2) и PGE2 (простагландин E2) [97]. У пациентов с тяжёлой стероидорезистентной РТПХ, которые отвечали на терапию МСК уровень PGE2 существенно повышался [97].

Фосфатидилсерин, локализованный на внешнем монослое плазматической мембраны апоптотических МСК, опосредует иммуносупрессорное действие на активированные CD4⁺ Т-лимфоциты [98]. Так, апоптотические тельца, полученные путём обработки стауроспорином мышинных костномозговых МСК, напрямую взаимодействовали с активированными CD4⁺ Т-лимфоцитами за счёт связывания фосфатидилсерина, экспонированного на поверхности апоптотического тельца, и TIM-3, экспрессируемого на Т-клетке [98]. Это взаимодействие приводило к ингибированию внутриклеточной трансдукции сигнала через Т-клеточный рецептор в Т-лимфоцитах без поглощения апоптотических МСК, как происходило в случае с макрофагами. Примечательно, что апоптотические МСК оказывали иммуносупрессорное действие только на активированные эффекторные CD4⁺ Т-клетки, и не оказывали эффектов на не активированные лимфоциты. Апоптотические МСК дозо-зависимо ограничивали экспансию эффекторных популяций, включая Th1 (IFN γ ⁺CD4⁺), Th17 (IL-17A⁺CD4⁺) и Th2 (IL-4⁺CD4⁺), что сопровождалось снижением уровней цитокинов IFN γ , IL-17A и IL-4, *in vitro* и *in vivo* и оказывали поддерживающий эффект на регуляторные Foxp3⁺CD4⁺ Т-клетки [98]. Схематически терапевтические эффекты апоптотических МСК представлены на рисунке 2.

Таким образом, апоптотические МСК могут осуществлять иммуномодулирующую функцию как после эффероцитоза моноцитами/макрофагами, приобретающими иммуносупрессорный фенотип, так и за счёт прямого взаимодействия с эффекторными Т-клетками.

5. АПОПТОТИЧЕСКИЕ МСК СПОСОБСТВУЮТ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНИ И ЗАЖИВЛЕНИЮ КОЖНЫХ РАН

Регенеративный потенциал апоптотических МСК ассоциирован не только с иммуномодуляцией, но и с воздействием на тканеспецифичные клетки, что приводило к усилению ангиогенеза, снижению

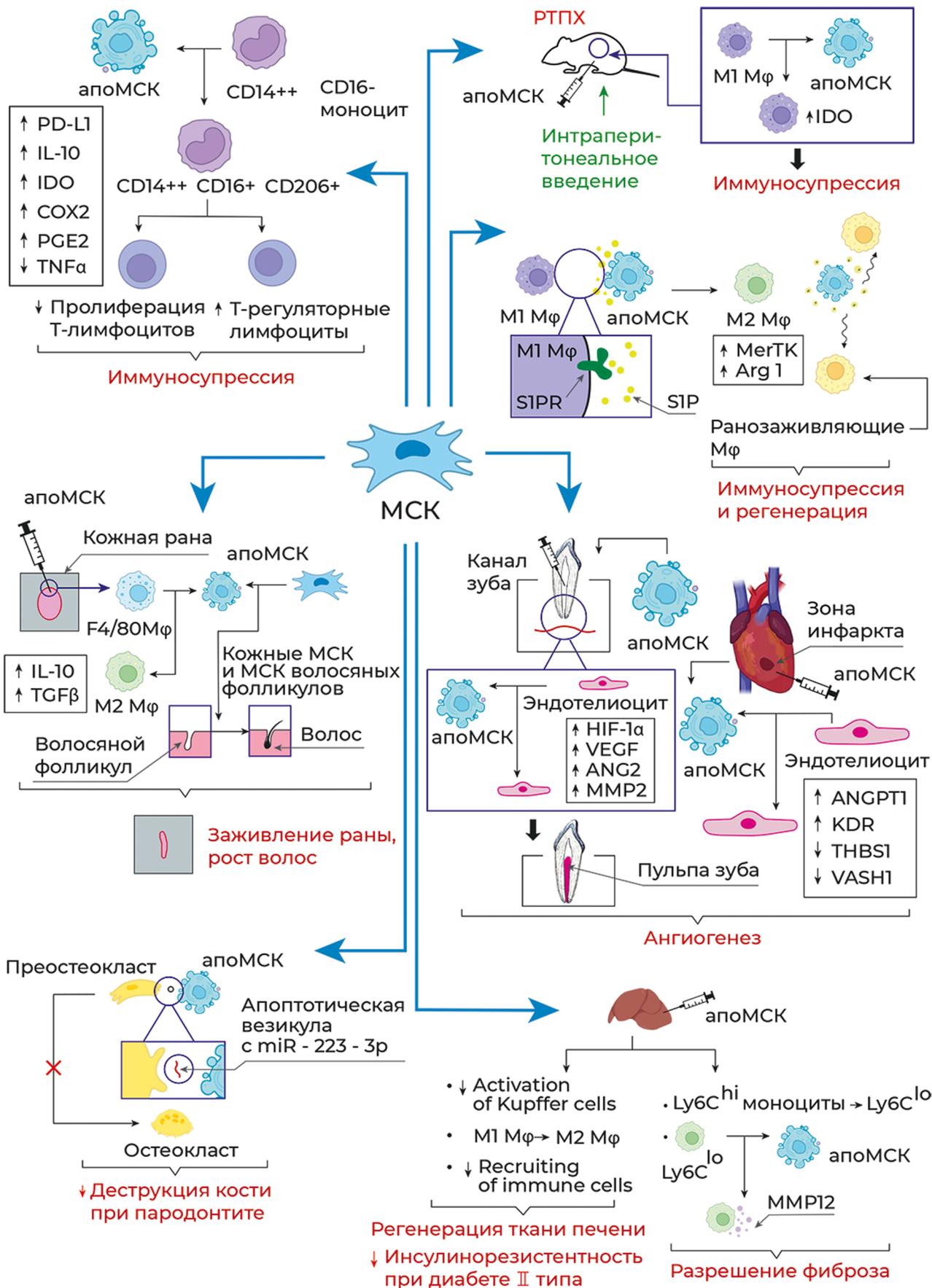


Рисунок 2. Механизмы терапевтического действия апоптотических МСК.

фиброза, стимуляции резидентных стволовых клеток и другим терапевтическим эффектам [89, 99–101]. На мышинной модели заживления раны было показано, что введение сингенных апоптотических костномозговых МСК, полученных путём обработки стауроспорином, в место вырезанного лоскута кожи приводило к меньшей инфильтрации воспалительных клеток, меньшей площади рубцов и более интегрированной структуре кожи с вновь сформированным эпителием, кроме того отмечено восстановление некоторых волосяных фолликулов, а отложения коллагена были более организованными по сравнению с контрольными животными [89]. Подобный терапевтический эффект апоптотических МСК был связан с их эффероцитозом F4/80 макрофагами и их последующей поляризацией в CD206⁺ M2 фенотип, который секретирует высокие уровни противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β [89]. Помимо этого, M2 макрофаги, эффероцитировавшие апоптотические МСК, эффективно рекрутировали в место повреждения кожные фибробласты, усиливая их миграцию, что в свою очередь способствовало заживлению раны [89]. Ма с соавт. показали, что внутрикожно введённые апоптотические МСК поглощались кожными МСК и МСК волосяных фолликулов, активируя в них Wnt/ β -катенин сигнальный путь и стимулируя регенеративный потенциал [99]. Эти же авторы продемонстрировали на мышинной модели заживления раны, что апоптотические МСК, введенные внутривенно, стимулировали более быстрое восстановление кожного повреждения, а также усиливали рост волос, в том числе за счёт стимуляции пролиферации соответствующих резидентных МСК [99] (рис. 2).

На крысиной модели инфаркта миокарда было показано, что сингенные костномозговые МСК, введённые локально в зону инфаркта, быстро подвергались апоптозу, генерируя большое количество апоптотических телец, которые поглощались преимущественно PECAM1/CD31-позитивными эндотелиальными клетками в пограничной с инфарктом зоне [100]. В экспериментах *in vitro* было продемонстрировано, что апоптотические МСК, поглощённые эндотелиоцитами, усиливали их миграцию, повышали пролиферацию и стимулировали ангиогенез за счёт увеличения экспрессии проангиогенных генов (*ANGPT1* и *KDR*) и уменьшения антиангиогенных генов (*THBS1* и *VASH1*) [100]. Механизм стимуляции ангиогенеза апоптотическими МСК был ассоциирован с повышенным биогенезом лизосом и аутофагии за счёт увеличения экспрессии TFEB (транскрипционный фактор EB) [100]. *TFEB* — мастер-ген, регулирующий лизосомы и аутофагию, активно участвующий в процессе ангиогенеза и постишемической регенерации тканей [102]. Таким образом, в основе восстановления сердечной мышцы в данном исследовании лежит стимуляция ангиогенеза апоптотическими МСК через регуляцию аутофагии в реципиентных эндотелиоцитах. Такой же механизм стимуляции ангиогенеза, опосредованный через TFEB и аутофагию, был показан на модели регенерации

пульпы зуба [101]. Апоптотические МСК пульпы зуба эффероцитировались эндотелиоцитами, стимулируя в них повышение экспрессии проангиогенных белков и белков, участвующих в клеточной миграции (HIF-1 α , VEGF, ANG2 и MMP2), что приводило к ревазуляризации ткани и регенерации пульпы [101] (рис. 2).

На мышинной модели пародонтита было показано, что сингенные апоптотические костномозговые МСК, полученные за счёт гипоксии, значительно ингибировали дифференцировку остеокластов и резорбцию альвеолярной кости [73]. Оказалось, что эти апоптотические МСК поглощались преостеокластами и доставляли в них miR-223-3p, которая оказывала значительное ингибирующее действие на остеокластогенез, что в совокупности приводило к уменьшению деструкции кости при пародонтите [73] (рис. 2).

На двух моделях апоптоз-дефицитных мышей (*MRL/lpr* и *Casp3^{-/-}*) было показано, что резидентные костномозговые МСК утрачивали способность дифференцироваться в остециты, вследствие чего развивалась остеопения [103]. Аллогенные апоптотические МСК, введённые внутривенно таким животным, эффективно поглощались резидентными костномозговыми МСК, восстанавливая их дифференцировочный потенциал в клетки мезодермального ряда за счёт активации Wnt/ β -катенин сигнального пути, что способствовало снижению признаков остеопении. Такие же терапевтические эффекты экзогенно введённых апоптотических МСК наблюдались при остеопении у мышей с овариэктомией [103] (рис. 2).

На мышинной модели сахарного диабета 2 типа было продемонстрировано, что внутривенно введённые апоптотические МСК в течение 24 ч накапливались в печени и эффективно поглощались как резидентными печёночными макрофагами, клетками Купфера, так и рекрутированными в печень моноцитами [104]. Эффероцитоз апоптотических МСК приводил к функциональному регулированию гомеостаза печёночных макрофагов, что проявлялось в виде снижения активации клеток Купфера, поляризации макрофагов в противовоспалительный M2 фенотип и значительного уменьшения рекрутинга и инфильтрации моноцитов и других иммунных клеток, поддерживающих воспаление [104]. В совокупности эти события способствовали восстановлению ткани печени, улучшению переносимости глюкозы и снижению инсулинорезистентности [104]. Внутривенно введенные костномозговые МСК, подвергшиеся апоптозу в печени после трансплантации, эффективно модулировали баланс провоспалительных LybC^{high} и противовоспалительных макрофагов LybC^{low} в мышинной модели SCD₄-индуцированного фиброза. Такая модуляция и восстановление гомеостаза печёночных макрофагов была связана с несколькими механизмами: апоптотические МСК вызывали прямое переключение провоспалительных макрофагов LybC^{high} в противовоспалительные LybC^{low} и предотвращали рекрутинг в повреждённую печень

Ly6C^{high} моноцитов из кровотока, тем самым существенно снижая соотношение Ly6C^{high}/Ly6C^{low} в печени. Ly6C^{low} макрофаги, эффероцитировавшие апоптотические МСК, начинали продуцировать высокие уровни матриксной металлопротеиназы 12 (MMP12), которая участвует в деградации внеклеточного матрикса, что приводило к разрешению фиброза [105] (рис. 2).

Исходя из вышеописанных примеров, можно предположить, что эффероцитоз трансплантированных МСК как профессиональными, так и непрофессиональными фагоцитами может являться обязательным и неотъемлемым этапом сложного механизма их терапевтического действия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Апоптоз трансплантированных МСК и их последующее поглощение эффероцитами изменяет свойства последних. Этот эффект распространяется на резидентные тканеспецифичные эффероциты, на эффероциты, рекрутированные из кровотока, а также на некоторые собственные стволовые клетки реципиента, в том числе МСК. У таких эффероцитов меняется фенотип и секретом, что приводит к кардинальному изменению их функциональной активности и, в свою очередь, оказывает влияние на течение и исход заболеваний, которыми страдает реципиент. Показано, что в большинстве случаев основными эффероцитами апоптотических МСК выступают макрофаги, что, вероятно, и обеспечивает проявление многих иммуномодулирующих эффектов МСК. Кроме того, в ряде работ, показано, что эффероцитами апоптотических МСК могут выступать и не иммунные клетки, такие как эндотелиоциты или резидентные стволовые клетки. В первом случае это приводит к стимуляции ангиогенеза, тогда как в случае эффероцитоза резидентными стволовыми клетками активируются регенеративные процессы в тканях, направленные на восстановление повреждённых клеток. Несмотря на публикации, демонстрирующие положительные терапевтические эффекты, связанные с эффероцитозом МСК, эта тема остаётся ещё недостаточно изученной. Однако она выглядит весьма перспективной как с точки зрения выяснения механизмов терапевтического действия МСК, так и с точки зрения разработки нового класса препаратов для терапии широкого спектра заболеваний.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность графическому дизайнеру Кристине Александровне Лазуткиной за помощь в подготовке иллюстраций.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-15-00149

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fuchs, Y., Steller, H. (2011) Programmed cell death in animal development and disease. *Cell*, **147**(4), 742–758. DOI: 10.1016/j.cell.2011.10.033
2. Yeo, W., Gautier, J. (2004) Early neural cell death: Dying to become neurons. *Dev. Biol.* **274**(2), 233–244. DOI: 10.1016/j.ydbio.2004.07.026
3. Varela-Nieto, I., Palmero, I., Magariños, M. (2019) Complementary and distinct roles of autophagy, apoptosis and senescence during early inner ear development. *Hear. Res.*, **376**, 86–96. DOI: 10.1016/j.heares.2019.01.014
4. Blume, Z.I., Lambert, J.M., Lovel, A.G., Mitchell, D.M. (2020) Microglia in the developing retina couple phagocytosis with the progression of apoptosis via P2RY12 signaling. *Dev. Dyn.*, **249**(6), 723–740. DOI: 10.1002/dvdy.163
5. Jahnukainen, K., Chrysis, D., Hou, M., Parvinen, M., Eksborg, S., Söder, O. (2004) Increased apoptosis occurring during the first wave of spermatogenesis is stage-specific and primarily affects midpachytene spermatocytes in the rat testis. *Biol. Reprod.*, **70**(2), 290–296. DOI: 10.1095/biolreprod.103.018390
6. Li, A., Felix, J.C., Hao, J., Minoo, P., Jain, J.K. (2005) Menstrual-like breakdown and apoptosis in human endometrial explants. *Hum. Reprod.*, **20**(6), 1709–1719. DOI: 10.1093/humrep/deh824
7. Zhang, N., Hartig, H., Dzhalalov, I., Draper, D., He, Y.W. (2005) The role of apoptosis in the development and function of T lymphocytes. *Cell Res.*, **15**(10), 749–769. DOI: 10.1038/sj.cr.7290345
8. Comi, C., Fleetwood, T., Dianzani, U. (2012) The role of T cell apoptosis in nervous system autoimmunity. *Autoimmun. Rev.*, **12**(2), 150–156. DOI: 10.1016/j.autrev.2011.08.011
9. Casamayor-Polo, L., López-Nevado, M., Paz-Artal, E., Anel, A., Rieux-Laucat, F., Allende, L.M. (2021) Immunologic evaluation and genetic defects of apoptosis in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, **58**(4), 253–274. DOI: 10.1080/10408363.2020.1855623
10. Cassim, A., Hettiarachchi, D., Dissanayake, V.H.W. (2022) Genetic determinants of syndactyly: Perspectives on pathogenesis and diagnosis. *Orphanet J. Rare Dis.*, **17**(1), 198. DOI: 10.1186/s13023-022-02339-0
11. Avagliano, L., Doi, P., Tosi, D., Scagliotti, V., Gualtieri, A., Gaston-Massuet, C., Pistocchi, A., Gallina, A., Marconi, A.M., Bulfamante, G., Massa, V. (2016) Cell death and cell proliferation in human spina bifida. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.*, **106**(2), 104–113. DOI: 10.1002/bdra.23466
12. Pistritto, G., Trisciuglio, D., Ceci, C., Garufi, A., d’Orazi, G. (2016) Apoptosis as anticancer mechanism: Function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY)*, **8**(4), 603–619. DOI: 10.18632/aging.100934
13. Han, C.Z., Ravichandran, K.S. (2011) Metabolic connections during apoptotic cell engulfment. *Cell*, **147**(7), 1442–1445. DOI: 10.1016/j.cell.2011.12.006

14. Boada-Romero E., Martinez J., Heckmann B.L., Green D.R. (2020) The clearance of dead cells by efferocytosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **21**(7), 398–414. DOI: 10.1038/s41580-020-0232-1
15. Juban, G., Chazaud, B. (2021) Efferocytosis during skeletal muscle regeneration. *Cells*, **10**(12), 3267. DOI: 10.3390/cells10123267
16. Kholodenko, I.V., Yarygin, K.N. (2023) Hepatic macrophages as targets for the MSC-based cell therapy in non-alcoholic steatohepatitis. *Biomedicines*, **11**(11), 3056. DOI: 10.3390/biomedicines11113056
17. Wang, X., He, Q., Zhou, C., Xu, Y., Liu, D., Fujiwara, N., Kubota, N., Click, A., Henderson, P., Vancil, J., Marquez, C.A., Gunasekaran, G., Schwartz, M.E., Tabrizian, P., Sarpel, U., Fiel, M.L., Diao, Y., Sun, B., Hoshida, Y., Liang, S., Zhong, Z. (2023) Prolonged hypernutrition impairs TREM2-dependent efferocytosis to license chronic liver inflammation and NASH development. *Immunity*, **56**(1), 58–77.e11. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.11.013
18. Zhang, S., Weinberg, S., deBerge, M., Gainullina, A., Schipma, M., Kinchen, J.M., Ben-Sahra, I., Gius, D.R., Yvan-Charvet, L., Chandel, N.S., Schumacker, P.T., Thorp, E.B. (2019) Efferocytosis fuels requirements of fatty acid oxidation and the electron transport chain to polarize macrophages for tissue repair. *Cell Metab.*, **29**(2), 443–456.e5. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.12.004
19. Brandel, V., Schimek, V., Göber, S., Hammond, T., Brunthaler, L., Schrotmaier, W.C., Mussbacher, M., Sachet, M., Liang, Y.Y., Reipert, S., Ortmayr, G., Pereyra, D., Santol, J., Rainer, M., Walterskirchen, N., Ramos, C., Gerakopoulos, V., Rainer, C., Spittler, A., Weiss, T., Kain, R., Messner, B., Gruenberger, T., Assinger, A., Oehler, R., Starlinger, P. (2022) Hepatectomy-induced apoptotic extracellular vesicles stimulate neutrophils to secrete regenerative growth factors. *J. Hepatol.*, **77**(6), 1619–1630. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.07.027
20. Kholodenko, I.V., Kholodenko, R.V., Majouga, A.G., Yarygin, K.N. (2022) Apoptotic MSCs and MSC-derived apoptotic bodies as new therapeutic tools. *Curr. Issues Mol. Biol.*, **44**(11), 5153–5172. DOI: 10.3390/cimb44110351
21. Preda, M.B., Neculachi, C.A., Fenyó, I.M., Vacaru, A.M., Publik, M.A., Simionescu, M., Burlacu, A. (2021) Short lifespan of syngeneic transplanted MSC is a consequence of *in vivo* apoptosis and immune cell recruitment in mice. *Cell Death Dis.*, **12**(6), 566. DOI: 10.1038/s41419-021-03839-w
22. Lu, W., Fu, C., Song, L., Yao, Y., Zhang, X., Chen, Z., Li, Y., Ma, G., Shen, C. (2013) Exposure to supernatants of macrophages that phagocytized dead mesenchymal stem cells improves hypoxic cardiomyocytes survival. *Int. J. Cardiol.*, **165**, 333–340. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.03.088
23. Wagoner, Z.W., Zhao, W. (2021) Therapeutic implications of transplanted-cell death. *Nat. Biomed. Eng.*, **5**(5), 379–384. DOI: 10.1038/s41551-021-00729-6
24. Elliott, M.R., Koster, K.M., Murphy, P.S. (2017) Efferocytosis signaling in the regulation of macrophage inflammatory responses. *J. Immunol.*, **198**(4), 1387–1394. DOI: 10.4049/jimmunol.1601520
25. Kelley, S.M., Ravichandran, K.S. (2021) Putting the brakes on phagocytosis: “Don’t-eat-me” signaling in physiology and disease. *EMBO Rep.*, **22**(6), e52564. DOI: 10.15252/embr.202152564
26. Azuma, Y., Nakagawa, H., Dote, K., Higai, K., Matsumoto, K. (2011) Decreases in CD31 and CD47 levels on the cell surface during etoposide-induced Jurkat cell apoptosis. *Biol. Pharm. Bull.*, **34**(12), 1828–1834. DOI: 10.1248/bpb.34.1828
27. Tada, K., Tanaka, M., Hanayama, R., Miwa, K., Shinohara, A., Iwamatsu, A., Nagata, S. (2003) Tethering of apoptotic cells to phagocytes through binding of CD47 to Src homology 2 domain-bearing protein tyrosine phosphatase substrate-1. *J. Immunol.*, **171**(11), 5718–5726. DOI: 10.4049/jimmunol.171.11.5718
28. Lv, Z., Bian, Z., Shi, L., Niu, S., Ha, B., Tremblay, A., Li, L., Zhang, X., Paluszynski, J., Liu, M., Zen, K., Liu, Y. (2015) Loss of cell surface CD47 clustering formation and binding avidity to SIRP α facilitate apoptotic cell clearance by macrophages. *J. Immunol.*, **195**(2), 661–671. DOI: 10.4049/jimmunol.1401719
29. Shi, H., Wang, X., Li, F., Gerlach, B.D., Yurdagul, A. Jr, Moore, M.P., Zeldin, S., Zhang, H., Cai, B., Zheng, Z., Valenti, L., Tabas, I. (2022) CD47-SIRP α axis blockade in NASH promotes necroptotic hepatocyte clearance by liver macrophages and decreases hepatic fibrosis. *Sci. Transl. Med.*, **14**(672), eabp8309. DOI: 10.1126/scitranslmed.abp8309
30. Jarr, K.U., Kojima, Y., Weissman, I.L., Leeper, N.J. (2022) 2021 Jeffrey M. Hoeg Award lecture: Defining the role of efferocytosis in cardiovascular disease: A focus on the CD47 (Cluster of Differentiation 47) axis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **42**(6), e145–e154. DOI: 10.1161/ATVBAHA.122.317049
31. von Roemeling, C.A., Wang, Y., Qie, Y., Yuan, H., Zhao, H., Liu, X., Yang, Z., Yang, M., Deng, W., Bruno, K.A., Chan, C.K., Lee, A.S., Rosenfeld, S.S., Yun, K., Johnson, A.J., Mitchell, D.A., Jiang, W., Kim, B.Y.S. (2020) Therapeutic modulation of phagocytosis in glioblastoma can activate both innate and adaptive antitumor immunity. *Nat. Commun.*, **11**(1), 1508. DOI: 10.1038/s41467-020-15129-8
32. Zhang, J., Jin, S., Guo, X., Qian, W. (2018) Targeting the CD47-SIRP α signaling axis: Current studies on B-cell lymphoma immunotherapy. *J. Int. Med. Res.*, **46**(11), 4418–4426. DOI: 10.1177/0300060518799612
33. Xu, R., Xie, H., Shen, X., Huang, J., Zhang, H., Fu, Y., Zhang, P., Guo, S., Wang, D., Li, S., Zheng, K., Sun, W., Liu, L., Cheng, J., Jiang, H. (2023) Impaired efferocytosis enables apoptotic osteoblasts to escape osteoimmune surveillance during aging. *Adv. Sci.*, **10**(36), e2303946. DOI: 10.1002/advs.202303946
34. Bratton, D.L., Fadok, V.A., Richter, D.A., Kailey, J.M., Guthrie, L.A., Henson, P.M. (1997) Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *J. Biol. Chem.*, **272**(42), 26159–26165. DOI: 10.1074/jbc.272.42.26159
35. Birge, R.B., Boeltz, S., Kumar, S., Carlson, J., Wanderley, J., Calianese, D., Barcinski, M., Brekken, R.A., Huang, X., Hutchins, J.T., Freimark, B., Empig, C., Mercer, J., Schroit, A.J., Schett, G., Herrmann, M. (2016) Phosphatidylserine is a global immunosuppressive signal in efferocytosis, infectious disease, and cancer. *Cell Death Differ.*, **23**(6), 962–978. DOI: 10.1038/cdd.2016.11
36. Gardai, S.J., McPhillips, K.A., Frasch, S.C., Janssen, W.J., Starefeldt, A., Murphy-Ullrich, J.E., Bratton, D.L., Oldenborg, P.A., Michalak, M., Henson, P.M. (2005) Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell*, **123**(2), 321–334. DOI: 10.1016/j.cell.2005.08.032
37. Bohlsion, S.S., Fraser, D.A., Tenner, A.J. (2006) Complement proteins C1q and MBL are pattern recognition molecules that signal immediate and long-term protective immune functions. *Mol. Immunol.*, **44**(1–3), 33–43. DOI: 10.1016/j.molimm.2006.06.021
38. Oroszlán, M., Daha, M.R., Cervenak, L., Prohászka, Z., Füst, G., Roos, A. (2007) MBL and C1q compete for interaction with human endothelial cells. *Mol. Immunol.*, **44**(6), 1150–1158. DOI: 10.1016/j.molimm.2006.06.015

39. Ogden, C.A., de Cathelineau, A., Hoffmann, P.R., Bratton, D., Ghebrehiwet, B., Fadok, V.A., Henson, P.M. (2001) C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. *J. Exp. Med.*, **194**(6), 781–795. DOI: 10.1084/jem.194.6.781
40. Meesmann, H.M., Fehr, E.M., Kierschke, S., Herrmann, M., Bilyy, R., Heyder, P., Blank, N., Krienke, S., Lorenz, H.M., Schiller, M. (2010) Decrease of sialic acid residues as an eat-me signal on the surface of apoptotic lymphocytes. *J. Cell Sci.*, **123**(Pt 19), 3347–3356. DOI: 10.1242/jcs.066696
41. Kinchen, J.M., Ravichandran, K.S. (2007) Journey to the grave: Signaling events regulating removal of apoptotic cells. *J. Cell Sci.*, **120**(Pt 13), 2143–2149. DOI: 10.1242/jcs.03463
42. Gutierrez, M.G. (2013) Functional role(s) of phagosomal Rab GTPases. *Small GTPases*, **4**(3), 148–158. DOI: 10.4161/sgtp.25604
43. Christoforidis, S., McBride, H.M., Burgoyne, R.D., Zerial, M. (1999) The Rab5 effector EEA1 is a core component of endosome docking. *Nature*, **397**(6720), 621–625. DOI: 10.1038/17618
44. Fratti, R.A., Backer, J.M., Gruenberg, J., Corvera, S., Deretic, V. (2001) Role of phosphatidylinositol 3-kinase and Rab5 effectors in phagosomal biogenesis and mycobacterial phagosome maturation arrest. *J. Cell Biol.*, **154**(3), 631–644. DOI: 10.1083/jcb.200106049
45. Kaur, G., Lakkaraju, A. (2018) Early endosome morphology in health and disease. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1074**, 335–343. DOI: 10.1007/978-3-319-75402-4_41
46. Vieira, O.V., Botelho, R.J., Rameh, L., Brachmann, S.M., Matsuo, T., Davidson, H.W., Schreiber, A., Backer, J.M., Cantley, L.C., Grinstein, S. (2001) Distinct roles of class I and class III phosphatidylinositol 3-kinases in phagosome formation and maturation. *J. Cell Biol.*, **155**(1), 19–25. DOI: 10.1083/jcb.200107069
47. Vieira, O.V., Bucci, C., Harrison, R.E., Trimble, W.S., Lanzetti, L., Gruenberg, J., Schreiber, A.D., Stahl, P.D., Grinstein, S. (2003) Modulation of Rab5 and Rab7 recruitment to phagosomes by phosphatidylinositol 3-kinase. *Mol. Cell Biol.*, **23**(7), 2501–2514. DOI: 10.1128/MCB.23.7.2501-2514.2003
48. Fairn, G.D., Grinstein, S. (2012) How nascent phagosomes mature to become phagolysosomes. *Trends Immunol.*, **33**(8), 397–405. DOI: 10.1016/j.it.2012.03.003
49. Kinchen, J.M., Ravichandran, K.S. (2008) Phagosome maturation: Going through the acid test. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **9**(10), 781–795. DOI: 10.1038/nrm2515
50. Huynh, K.K., Eskelinen, E.L., Scott, C.C., Malevanets, A., Saftig, P., Grinstein, S. (2007) LAMP proteins are required for fusion of lysosomes with phagosomes. *EMBO J.*, **26**(2), 313–324. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601511
51. Dominici, M., le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, D.J., Horwitz, E. (2006) Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, **8**(4), 315–317. DOI: 10.1080/14653240600855905
52. Tsvetkova, A.V., Vakhrushev, I.V., Basok, Y.B., Grigor'ev, A.M., Kirsanova, L.A., Lupatov, A.Y., Sevastianov, V.I., Yarygin, K.N. (2021) Chondrogenic potential of MSC from different sources in spheroid culture. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **170**(4), 528–536. DOI: 10.1007/s10517-021-05101-x
53. Longhini, A.L.F., Salazar, T.E., Vieira, C., Trinh, T., Duan, Y., Pay, L.M., Li Calzi, S., Losh, M., Johnston, N.A., Xie, H., Kim, M., Hunt, R.J., Yoder, M.C., Santoro, D., McCarrel, T.M., Grant, M.B. (2019) Peripheral blood-derived mesenchymal stem cells demonstrate immunomodulatory potential for therapeutic use in horses. *PLoS One*, **14**(3), e0212642. DOI: 10.1371/journal.pone.0212642
54. Uzieliene, I., Bialaglovyte, P., Miksiunas, R., Lebedis, I., Pachaleva, J., Vaiciuleviciute, R., Ramanaviciene, A., Kvederas, G., Bernotiene, E. (2023) Menstrual blood-derived stem cell paracrine factors possess stimulatory effects on chondrogenesis *in vitro* and diminish the degradation of articular cartilage during osteoarthritis. *Bioengineering (Basel)*, **10**(9), 1001. DOI: 10.3390/bioengineering10091001
55. Lupatov, A.Y., Saryglar, R.Y., Vtorushina, V.V., Poltavtseva, R.A., Bystrykh, O.A., Chuprynin, V.D., Krechetova, L.V., Pavlovich, S.V., Yarygin, K.N., Sukhikh, G.T. (2021) Mesenchymal stromal cells isolated from ectopic but not uterine endometrium display pronounced immunomodulatory activity *in vitro*. *Biomedicines*, **9**(10), 1286. DOI: 10.3390/biomedicines9101286
56. Vakhrushev, I.V., Antonov, E.N., Popova, A.V., Konstantinova, E.V., Karalkin, P.A., Kholodenko, I.V., Lupatov, A.Y., Popov, V.K., Bagratashvili, V.N., Yarygin, K.N. (2012) Design of tissue engineering implants for bone tissue regeneration of the basis of new generation poly(lactoglycolide) scaffolds and multipotent mesenchymal stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED cells). *Bull. Exp. Biol. Med.*, **153**(1), 143–147. DOI: 10.1007/s10517-012-1663-2
57. Burunova, V.V., Gisina, A.M., Kholodenko, I.V., Lupatov, A.Y., Shragina, O.A., Yarygin, K.N. (2010) Standardization of biochemical profile of mesenchymal cell materials by probing the level of dehydrogenase activity. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **149**(4), 497–501. DOI: 10.1007/s10517-010-0978-0
58. Miceli, V., Bulati, M., Iannolo, G., Zito, G., Gallo, A., Conaldi, P.G. (2021) Therapeutic properties of mesenchymal stromal/stem cells: The need of cell priming for cell-free therapies in regenerative medicine. *Int. J. Mol. Sci.*, **22**(2), 763. DOI: 10.3390/ijms22020763
59. Lotfy, A., AboQuella, N.M., Wang, H. (2023) Mesenchymal stromal/stem cell (MSC)-derived exosomes in clinical trials. *Stem Cell Res. Ther.*, **14**(1), 66. DOI: 10.1186/s13287-023-03287-7
60. Krampera, M., le Blanc, K. (2021) Mesenchymal stromal cells: Putative microenvironmental modulators become cell therapy. *Cell Stem Cell*, **28**(10), 1708–1725. DOI: 10.1016/j.stem.2021.09.006
61. Yarygin, K.N., Namestnikova, D.D., Sukhinich, K.K., Gubskiy, I.L., Majouga, A.G., Kholodenko, I.V. (2021) Cell therapy of stroke: Do the intra-arterially transplanted mesenchymal stem cells cross the blood-brain barrier? *Cells*, **10**(11), 2997. DOI: 10.3390/cells10112997
62. Kholodenko, I.V., Yarygin, K.N., Gubsky, L.V., Konieva, A.A., Tairova, R.T., Povarova, O.V., Kholodenko, R.V., Burunova, V.V., Yarygin, V.N., Skvortsova, V.I. (2012) Intravenous xenotransplantation of human placental mesenchymal stem cells to rats: Comparative analysis of homing in rat brain in two models of experimental ischemic stroke. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **154**(1), 118–123. DOI: 10.1007/s10517-012-1890-6
63. Giovannelli, L., Bari, E., Jommi, C., Tartara, F., Armocida, D., Garbossa, D., Cofano, F., Torre, M.L., Segale, L. (2023) Mesenchymal stem cell secretome and extracellular vesicles for neurodegenerative diseases: Risk-benefit profile and next steps for the market access. *Bioact. Mater.*, **29**, 16–35. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2023.06.013
64. Xu, F., Fei, Z., Dai, H., Xu, J., Fan, Q., Shen, S., Zhang, Y., Ma, Q., Chu, J., Peng, F., Zhou, F., Liu, Z., Wang, C. (2022) Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles with high PD-L1 expression for autoimmune diseases treatment. *Adv. Mater.*, **34**(1), e2106265. DOI: 10.1002/adma.202106265
65. Liu, H., Li, R., Liu, T., Yang, L., Yin, G., Xie, Q. (2020) Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in rheumatoid arthritis. *Front. Immunol.*, **11**, 1912. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01912

66. Kholodenko, I.V., Kholodenko, R.V., Yarygin, K.N. (2023) The crosstalk between mesenchymal stromal/stem cells and hepatocytes in homeostasis and under stress. *Int. J. Mol. Sci.*, **24**(20), 15212. DOI: 10.3390/ijms242015212
67. Kholodenko, I.V., Kholodenko, R.V., Lupatov, A.Y., Yarygin, K.N. (2018) Cell therapy as a tool for induction of immunological tolerance after liver transplantation. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **165**(4), 554–563. DOI: 10.1007/s10517-018-4213-8
68. Soontararak, S., Chow, L., Johnson, V., Coy, J., Wheat, W., Regan, D., Dow, S. (2018) Mesenchymal Stem Cells (MSC) derived from induced pluripotent stem cells (iPSC) equivalent to adipose-derived MSC in promoting intestinal healing and microbiome normalization in mouse inflammatory bowel disease model. *Stem Cells Transl. Med.*, **7**(6), 456–467. DOI: 10.1002/sctm.17-0305
69. Gnecci, M., Danieli, P., Malpasso, G., Ciuffreda, M.C. (2016) Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cells in tissue repair. *Methods Mol. Biol.*, **1416**, 123–146. DOI: 10.1007/978-1-4939-3584-0_7
70. Eggenhofer, E., Luk, F., Dahlke, M.H., Hoogduijn, M.J. (2014) The life and fate of mesenchymal stem cells. *Front. Immunol.*, **5**, 148. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00148
71. Pang, S.H.M., d'Rozario, J., Mendonca, S., Bhuvan, T., Payne, N.L., Zheng, D., Hisana, A., Wallis, G., Barugahare, A., Powell, D., Rautela, J., Huntington, N.D., Dewson, G., Huang, D.C.S., Gray, D.H.D., Heng, T.S.P. (2021) Mesenchymal stromal cell apoptosis is required for their therapeutic function. *Nat. Commun.*, **12**(1), 6495. DOI: 10.1038/s41467-021-26834-3
72. Preda, M.B., Lupan, A.M., Neculachi, C.A., Leti, L.I., Fenyó, I.M., Popescu, S., Rusu, E.G., Marinescu, C.I., Simionescu, M., Burlacu, A. (2020) Evidence of mesenchymal stromal cell adaptation to local microenvironment following subcutaneous transplantation. *J. Cell. Mol. Med.*, **24**(18), 10889–10897. DOI: 10.1111/jcmm.15717
73. Li, X., Jiang, Y., Liu, X., Fu, J., Du, J., Luo, Z., Xu, J., Bhawal, U.K., Liu, Y., Guo, L. (2023) Mesenchymal stem cell-derived apoptotic bodies alleviate alveolar bone destruction by regulating osteoclast differentiation and function. *Int. J. Oral Sci.*, **15**(1), 51. DOI: 10.1038/s41368-023-00255-y
74. Zhu, W., Chen, J., Cong, X., Hu, S., Chen, X. (2006) Hypoxia and serum deprivation-induced apoptosis in mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, **24**(2), 416–245. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0121
75. Galleu, A., Riffo-Vasquez, Y., Trento, C., Lomas, C., Dolcetti, L., Cheung, T.S., von Bonin, M., Barbieri, L., Halai, K., Ward, S., Weng, L., Chakraverty, R., Lombardi, G., Watt, F.M., Orchard, K., Marks, D.I., Apperley, J., Bornhauser, M., Walczak, H., Bennett, C., Dazzi, F. (2017) Apoptosis in mesenchymal stromal cells induces *in vivo* recipient-mediated immunomodulation. *Sci. Transl. Med.*, **9**(416), eaam7828. DOI: 10.1126/scitranslmed.aam7828
76. Yamaza, T., Miura, Y., Bi, Y., Liu, Y., Akiyama, K., Sonoyama, W., Patel, V., Gutkind, S., Young, M., Gronthos, S., Le, A., Wang, C.Y., Chen, W., Shi, S. (2008) Pharmacologic stem cell based intervention as a new approach to osteoporosis treatment in rodents. *PLoS ONE*, **3**(7), e2615. DOI: 10.1371/journal.pone.0002615
77. Ham, O., Lee, S.Y., Song, B.W., Cha, M.J., Lee, C.Y., Park, J.H., Kim, I.K., Lee, J., Seo, H.H., Seung, M.J., Choi, E., Jang, Y., Hwang, K.C. (2015) Modulation of Fas-Fas ligand interaction rehabilitates hypoxia-induced apoptosis of mesenchymal stem cells in ischemic myocardium niche. *Cell Transplant.*, **24**(7), 1329–1341. DOI: 10.3727/096368914X681748
78. Kennea, N.L., Stratou, C., Naparus, A., Fisk, N.M., Mehmet, H. (2005) Functional intrinsic and extrinsic apoptotic pathways in human fetal mesenchymal stem cells. *Cell Death Differ.*, **12**(11), 1439–1441. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401641
79. Manns, J., Daubrawa, M., Driessen, S., Paasch, F., Hoffmann, N., Löffler, A., Lauber, K., Dieterle, A., Alers, S., Ifner, T., Schulze-Osthoff, K., Stork, B., Wesselborg, S. (2011) Triggering of a novel intrinsic apoptosis pathway by the kinase inhibitor staurosporine: Activation of caspase-9 in the absence of Apaf-1. *FASEB J.*, **25**(9), 3250–3261. DOI: 10.1096/fj.10-177527
80. Götherström, C., Lundqvist, A., Duprez, I.R., Childs, R., Berg, L., le Blanc, K. (2011) Fetal and adult multipotent mesenchymal stromal cells are killed by different pathways. *Cytotherapy*, **13**(3), 269–278. DOI: 10.3109/14653249.2010.523077
81. Kholodenko, I.V., Gisina, A.M., Manukyan, G.V., Majouga, A.G., Svirshchetskaya, E.V., Kholodenko, R.V., Yarygin, K.N. (2022) Resistance of human liver mesenchymal stem cells to FAS-induced cell death. *Curr. Issues Mol. Biol.*, **44**(8), 3428–3443. DOI: 10.3390/cimb44080236
82. Rodrigues, M., Turner, O., Stolz, D., Griffith, L.G., Wells, A. (2012) Production of reactive oxygen species by multipotent stromal cells/mesenchymal stem cells upon exposure to Fas ligand. *Cell Transplant.*, **21**(10), 2171–2187. DOI: 10.3727/096368912X639035
83. Solodееv, I., Meilik, B., Volovitz, I., Sela, M., Manheim, S., Yarkoni, S., Zipori, D., Gur, E., Shani, N. (2018) Fas-L promotes the stem cell potency of adipose-derived mesenchymal cells. *Cell Death Dis.*, **9**(6), 695. DOI: 10.1038/s41419-018-0702-y
84. Szegezdi, E., O'Reilly, A., Davy, Y., Vawda, R., Taylor, D.L., Murphy, M., Samali, A., Mehmet, H. (2009) Stem cells are resistant to TRAIL receptor-mediated apoptosis. *J. Cell. Mol. Med.*, **13**(11–12), 4409–4414. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00522.x
85. Secchiero, P., Melloni, E., Corallini, F., Beltrami, A.P., Alviano, F., Milani, D., d'Aurizio, F., di Iasio, M.G., Cesselli, D., Bagnara, G.P., Zauli, G. (2008) Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand promotes migration of human bone marrow multipotent stromal cells. *Stem Cells*, **26**(11), 2955–2963. DOI: 10.1634/stemcells.2008-0512
86. Driscoll, P.C. (2014) Structural studies of death receptors. *Methods Enzymol.*, **545**, 201–242. DOI: 10.1016/B978-0-12-801430-1.00009-3
87. Mbongue, J.C., Nicholas, D.A., Torrez, T.W., Kim, N.S., Firek, A.F., Langridge, W.H. (2015) The role of indoleamine 2, 3-dioxygenase in immune suppression and autoimmunity. *Vaccines (Basel)*, **3**(3), 703–729. DOI: 10.3390/vaccines3030703
88. Bikorimana, J.P., Saad, W., Abusarah, J., Lahrichi, M., Talbot, S., Shammaa, R., Rafei, M. (2022) CD146 defines a mesenchymal stromal cell subpopulation with enhanced suppressive properties. *Cells*, **11**(15), 2263. DOI: 10.3390/cells11152263
89. Liu, J., Qiu, X., Lv, Y., Zheng, C., Dong, Y., Dou, G., Zhu, B., Liu, A., Wang, W., Zhou, J., Liu, S., Liu, S., Gao, B., Jin, Y. (2020) Apoptotic bodies derived from mesenchymal stem cells promote cutaneous wound healing via regulating the functions of macrophages. *Stem Cell Res. Ther.*, **11**(1), 507. DOI: 10.1186/s13287-020-02014-w
90. Shapouri-Moghaddam, A., Mohammadian, S., Vazini, H., Taghadosi, M., Esmaeili, S.A., Mardani, F., Seifi, B., Mohammadi, A., Afshari, J.T., Sahebkar, A. (2018) Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J. Cell. Physiol.*, **233**(9), 6425–6440. DOI: 10.1002/jcp.26429
91. Yang, Z., Ming, X.F. (2014) Functions of arginase isoforms in macrophage inflammatory responses: Impact on cardiovascular diseases and metabolic disorders. *Front. Immunol.*, **5**, 533. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00533

92. Shevela, E.Ya., Sakhno, L.V., Maksimova, A.A., Tikhonova, M.A., Ostanin, A.A., Chernykh, E.R. (2022) Expression of Arg1 and MerTK by human macrophages activated by M2-polarizing stimuli and their role in determining low allostimulatory activity. *Immunologiya*, **43**(5), 515–524. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-5-515-524
93. Weigert, A., Olesch, C., Brüne, B. (2019) Sphingosine-1-phosphate and macrophage biology — how the sphinx tames the big eater. *Front. Immunol.*, **10**, 1706. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01706
94. Weichand, B., Weis, N., Weigert, A., Grossmann, N., Levkau, B., Brüne, B. (2013) Apoptotic cells enhance sphingosine-1-phosphate receptor 1 dependent macrophage migration. *Eur. J. Immunol.*, **43**(12), 3306–3313. DOI: 10.1002/eji.201343441
95. Luo, B., Gan, W., Liu, Z., Shen, Z., Wang, J., Shi, R., Liu, Y., Liu, Y., Jiang, M., Zhang, Z., Wu, Y. (2016) Erythropoietin signaling in macrophages promotes dying cell clearance and immune tolerance. *Immunity*, **44**(2), 287–302. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.01.002
96. de Witte, S.F.H., Luk, F., Sierra Parraga, J.M., Gargesh, M., Merino, A., Korevaar, S.S., Shankar, A.S., O'Flynn, L., Elliman, S.J., Roy, D., Betjes, M.G.H., Newsome, P.N., Baan, C.C., Hoogduijn, M.J. (2018) Immunomodulation by therapeutic mesenchymal stromal cells (MSC) is triggered through phagocytosis of MSC by monocytic cells. *Stem Cells*, **36**(4), 602–615. DOI: 10.1002/stem.2779
97. Cheung, T.S., Galleu, A., von Bonin, M., Bornhäuser, M., Dazzi, F. (2019) Apoptotic mesenchymal stromal cells induce prostaglandin E2 in monocytes: Implications for the monitoring of mesenchymal stromal cell activity. *Haematologica*, **104**(10), e438–e441. DOI: 10.3324/haematol.2018.214767
98. Wang, R., Hao, M., Kou, X., Sui, B., Sanmillan, M.L., Zhang, X., Liu, D., Tian, J., Yu, W., Chen, C., Yang, R., Sun, L., Liu, Y., Giraud, C., Rao, D.A., Shen, N., Shi, S. (2022) Apoptotic vesicles ameliorate lupus and arthritis via phosphatidylserine-mediated modulation of T cell receptor signaling. *Bioact. Mater.*, **25**, 472–484. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.07.026
99. Ma, L., Chen, C., Liu, D., Huang, Z., Li, J., Liu, H., Kin Kwok, R.T., Tang, B., Sui, B., Zhang, X., Tang, J., Mao, X., Huang, W., Shi, S., Kou, X. (2022) Apoptotic extracellular vesicles are metabolized regulators nurturing the skin and hair. *Bioact. Mater.*, **19**, 626–641. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.04.022
100. Liu, H., Liu, S., Qiu, X., Yang, X., Bao, L., Pu, F., Liu, X., Li, C., Xuan, K., Zhou, J., Deng, Z., Liu, S., Jin, Y. (2020) Donor MSCs release apoptotic bodies to improve myocardial infarction via autophagy regulation in recipient cells. *Autophagy*, **16**(12), 2140–2155. DOI: 10.1080/15548627.2020.1717128
101. Li, Z., Wu, M., Liu, S., Liu, X., Huan, Y., Ye, Q., Yang, X., Guo, H., Liu, A., Huang, X., Yang, X., Ding, F., Xu, H., Zhou, J., Liu, P., Liu, S., Jin, Y., Xuan, K. (2022) Apoptotic vesicles activate autophagy in recipient cells to induce angiogenesis and dental pulp regeneration. *Mol. Ther.*, **30**(10), 3193–3208. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.05.006
102. Nussenzweig, S.C., Verma, S., Finkel, T. (2015) The role of autophagy in vascular biology. *Circ. Res.*, **116**(3), 480–488. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303805
103. Liu, D., Kou, X., Chen, C., Liu, S., Liu, Y., Yu, W., Yu, T., Yang, R., Wang, R., Zhou, Y., Shi, S. (2018) Circulating apoptotic bodies maintain mesenchymal stem cell homeostasis and ameliorate osteopenia via transferring multiple cellular factors. *Cell Res.*, **28**(9), 918–933. DOI: 10.1038/s41422-018-0070-2
104. Zhang, C., Sui, B., Zhang, X., Hu, J., Chen, J., Liu, J., Wu, D., Ye, Q., Xiang, L., Qiu, X., Liu, S., Deng, Z., Zhou, J., Liu, S., Shi, S., Jin, Y. (2021) Apoptotic vesicles restore liver macrophage homeostasis to counteract type 2 diabetes. *J. Extracell. Vesicles*, **10**(7), e12109. DOI: 10.1002/jev2.12109
105. Li, Y.H., Shen, S., Shao, T., Jin, M.T., Fan, D.D., Lin, A.F., Xiang, L.X., Shao, J.Z. (2021) Mesenchymal stem cells attenuate liver fibrosis by targeting Ly6Chi/lo macrophages through activating the cytokine-paracrine and apoptotic pathways. *Cell Death Discov.*, **7**(1), 239. DOI: 10.1038/s41420-021-00584-z

Поступила: 05. 04. 2024.
 После доработки 25. 05. 2024.
 Принята к публикации: 04. 06. 2024.

EFFEROCYTOSIS AS ONE OF THE MECHANISMS FOR REALIZING THE THERAPEUTIC EFFECTS OF MESENCHYMAL STEM CELLS

G.A. Blinova, K.N. Yarygin, I.V. Kholodenko*

Institute of Biomedical Chemistry,
 10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; *e-mail: irkhol@yandex.ru

Mesenchymal stem cells (MSCs) stimulate regeneration and exhibit unique immunomodulatory properties, which makes them attractive for use in cell therapies of a wide range of pathologies. The clinical use of MSCs is hampered by the insufficiently clear understanding of their therapeutic action mechanisms. It has been reliably proven that MSCs after transplantation quickly die in the recipient's body by the mechanism of apoptosis and are cleared by professional, such as macrophages, and non-professional phagocytes, including endothelial cells, hepatocytes, resident stem cells of various tissues, including MSCs. The ingestion and processing of apoptotic cells by the phagocytes was named efferocytosis. Despite rapid elimination of transplanted cells, in most cases MSC transplantation leads to positive therapeutic effects. Clearance of apoptotic MSCs affects phagocytes, changing their phenotype, secretome, and further behavior. This review presents the basic molecular mechanisms of efferocytosis, examines the clearance of apoptotic MSCs and their therapeutic effects in various pathologies in the context of their efferocytosis by various types of phagocytes.

Key words: efferocytosis; apoptosis; mesenchymal stem cells; inflammation; regeneration; immunomodulation

FUNDING

The research was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-15-00149.

Received: 05.04.2024; revised: 25.05.2024; accepted: 04.06.2024.