

Омарова Дина Ирмековна

студентка

ФГБОУ ВО «Омский государственный
педагогический университет»

г. Омск, Омская область

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор, директор

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический
университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Муравикова Екатерина Андреевна

лаборант-исследователь

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический
университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-102536

РОЛЬ СТВОЛОВОГО ПОТЕНЦИАЛА В МЕХАНИЗМАХ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Аннотация: печень, полифункциональный орган, с уникальными регенераторным потенциалом, в котором одну из ведущих ролей выполняют стволовые клетки. В обзоре представлен весь спектр стволовых клеток, их свойства, пролиферация, дифференцировка, гетерогенность, хоуминг как источники пролиферации различных цитотипов печени.

Ключевые слова: гепатоциты, регенерация, печень, стволовый потенциал печени, овальные клетки, гемопоэтические стволовые клетки, мезенхимные стволовые клетки, ангиогенные стволовые клетки, малые гепатоциты.

Последние два десятилетия развития современной биологии и медицины по праву можно назвать прорывом в области изучения стволовых клеток [1; 19; 45; 60; 63; 71]. Стволовые клетки найдены не только в обновляющихся клеточных популяциях, но и в растущих и статических таких, например, как печень. Впервые вопрос о стволовой клетке печени был поднят в 1958 году J. Wilson и E. Leduc [74], которые изучали регенерацию печени мышей на фоне хронического повреждения метионином. На основании полученных данных было высказано предположение, что регенерация паренхимы может происходить за счет малодифференцированных «стволовых клеток» печени.

В 1999 г. В. Е. Petersen и соавт. получили первые доказательства способности стволовых клеток (СК) костного мозга дифференцироваться в гепатоциты *in vivo* [16], наиболее высокое количество таких клеток выявлялось в случае выраженного фиброза печени на фоне хронического гепатита С. Источником предшественников гепатоцитов служил костный мозг, пуповинная кровь и периферическая кровь взрослого человека. Было также обнаружено, что дифференцированные СК не только экспрессировали гены и белки, типичные для гепатоцитов, но и обладали характерными функциональными свойствами, в частности, продуцировали мочевину, а также отличались наличием активности цитохрома P450, наличие гранул гликогена и признаков поляризации мембраны [65].

Стволовые клетки, благодаря своему потенциалу множественной дифференцировки и самообновления, могут дифференцироваться во все типы клеток человеческого организма, в частности в клетки поджелудочной железы, печени и мезенхимальне стволовые клетки (МСК) [52; 75].

Точное происхождение стволовых клеток не установлено, но предполагается, что эти клетки являются сохранившимися потомками эмбриональных

стволовых клеток печени либо имеют внепеченочное происхождение из костного мозга. Фенотипический профиль стволовых клеток включает в себя эпителиальные молекулы клеточной адгезии (EPCAM), нейтральные молекулы клеточной адгезии (NCAM), CD133, CXCR4, SOX9, SOX17, цитокератины (СК) 7/8/18/19, семейство белков, необходимых для передачи сигнала дифференцирования ткани, внутриядерного белка теломеразы, клаудин 3, MDR1. Понимая, как происходит дифференциация соматических стволовых клеток печени, можно решить ряд проблем доклинического и клинического лечения [10; 39].

Типы СК

В нормальной печени печеночные стволовые клетки представляют собой самообновляющуюся популяцию, локализованную в отдельных компартментах, называемых нишами стволовых клеток. Стволовые клетки печени обладают пластичностью, что позволяет им подвергаться диверсификации клонов [84].

На современном этапе выделяют несколько типов стволовых клеток в зависимости от степени потенциала дифференцировки: тотипотентные, плюрипотентные и мультипотентные. Тотипотентная стволовая клетка способна давать начало всем видам клеток и тканей в процессе эмбриогенеза, являясь источником целого организма, например, зигота, бластоцисты. Плюрипотентные стволовые клетки могут дифференцироваться в клетки тканей эндо-, экто- и мезодермального происхождения. Свойствами плюрипотентных стволовых клеток обладают эмбриональные (фетальные) стволовые клетки. Мультипотентные стволовые клетки дифференцируются в пределах одной клеточной линии, то есть одного дифферона [52; 70]).

Среди различных типов эмбриональные стволовые клетки сохраняют самую высокую пластичность и обладают потенциалом дифференцировки во все клеточные линии организма [52]. Эмбриональные стволовые клетки отличаются от взрослых или тканеспецифических стволовых клеток. Эмбриональные стволовые клетки имеют неограниченный потенциал развития, который может исследоваться на молекулярно-генетическом уровне различными методами [42; 68].

Стромальные стволовые клетки способны дифференцироваться в различные виды мезенхимальных тканей (костную, хрящевую, мышечную), однако практическое использование этих клеток находится в начальной стадии дифференцировки. Существуют исследования, в которых были выделены мезенхимальные стволовые клетки, а затем выращены *in vitro*. Это позволило проконтролировать процесс дифференциации в хрящевую и костную ткань, используя специфический фактор роста, с целью использования для восстановления поврежденных тканей [28].

Также в печени есть «совершенные прекурсоры», которые являются незрелыми клетками. Они теряют большинство генов стволовых клеток и выражают либо гепатоцитарные, либо билиарные маркеры. Их количество особенно высоко в фетальных и неонатальных тканях, при хронических заболеваниях печени [81].

Можно выделить несколько кандидатных на стволовость клеток печени:

– оральные клетки (ОК) – клетками-предшественниками являются мультипотентные стволовые клетки, которые расположены в каналах Геринга, представляющих собой анатомическую и физиологическую связь между системой внутридольковых канальцев гепатоцитов и билиарного дерева порталных трактов [56]. Гепатобласты являются диплоидными мелкими клетками, с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением и яйцевидной формой, которые дают начало гепатоцитической и холангиоцитной линии [80] в ответ на тяжелое повреждение печени из-за гибели большого количества гепатоцитов и/или отсутствие их пролиферации в связи с токсинами или канцерогенами [32].

Пока лишь установлено, что количество ОК коррелирует с тяжестью хронического заболевания [30] и что эти клетки начинают активироваться – реплицировать (осуществлять синтез дочерней цепи ДНК) при значительном снижении массы гепатоцитов в печени или при истощении репликационного потенциала гепатоцитов в ответ на токсическое воздействие.

Для идентификации популяции овальных клеток существуют созданные моноклональные антитела, позволяющие маркировать эти клетки [23]. Широко используемыми являются моноклональные антитела OV-6, которые связываются с компонентами цитоскелета овальных клеток и холангиоцитов, но не окрашивают гепатоциты, а также подобные им антитела к мембранному антигену А6. Поскольку морфологически и по экспрессии СК-19, γ -ГТП, гепатоцитарного парафина 1 (HepPar1) и ядерного фактора гепатоцитов 4 α (HNF4 α – hepatocyte nuclear factor 4 alpha) овальные клетки подобны холангиоцитам, а по своим биохимическим характеристикам они ближе к гепатоцитам плода [34; 50; 58; 69], принято считать, что эти клетки бипотентны и могут давать начало и гепатоцитам, и холангиоцитам. А также CD34, SCF, CD117, c-kit и CD90, характерные для гемопоэтических клеток, в связи с этим предполагается костномозговое происхождение овальных клеток [5; 7; 34; 69; 80]. Для выявления овальных клеток чаще всего используют антитела против СК-19, а также гистохимическую реакцию на γ -ГТП. В ответ на острые повреждения печени ОК экспрессируют CD133, KRT8 (Keratin 8), NCAM [61], а также ингибируют выработку IL-33, что зачастую ведет к завершению фиброза при хронических патологических состояниях [79];

– гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) – могут быть отличимы от зрелых клеток крови по отсутствию у них линии специфичных маркеров и присутствию некоторых других поверхностных антигенов, таких, как CD133 (для человеческих клеток) и c-kit и Sca-1 (у мышинных клеток) [28, 70]. Было показано, что стволовые клетки из различных тканей способны дифференцироваться в клетки, характерные для отдельных тканей, по-видимому, в ответ на сигналы микроокружения;

мезенхимальные стволовые клетки (МСК) – были изолированы из костного мозга, надкостницы, трабекулярной кости, жировой ткани, синовиальной оболочки, скелетной мускулатуры и молочных зубов. Эти клетки вызвали большой интерес из-за перспектив их использования в регенеративной

медицине и тканевой инженерии. Мезенхимальные стволовые клетки, изолированные из костного мозга, способны дифференцироваться в клетки соединительной ткани. МСК активно пролиферируют в культуре и дифференцируются в клетки костной, хрящевой, сократимой, жировой ткани, а также дают начало клеткам печени, почки, сердца, даже клеткам мозга [49]. Thy-1 CD34 маркеры дифференцировки в холангиоциты – GST π и CK19, в гепатоциты – GST α , CK18 [64].

МСК экспрессируют CD13, CD29, CD44, CD90, не экспрессируют специфические гемопоэтические маркеры CD3, CD14, CD34, CD45. Также наблюдается экспрессия HLA-I, но не CD133, CXCR4, HLA-DR. RT-ПЦР показала, что клетки положительны по α -SMA, SDF-1 α , CD49a, c-Met, но негативны по c-kit и AFP. Помимо этого, был обнаружен маркер плюрипотентных клеток OCT-4A. Oncostatin M, fibroblast growth factor-4 индуцировали дифференцировку клеток в гепатоциты;

– тканеспецифичные стволовые клетки – в последнее время были идентифицированы взрослые стволовые клетки с очень широким потенциалом дифференцировки, хотя не известно представляют ли они примитивные стволовые клетки или продукты исключительно редких событий дедифференцировки, включающие тканеспецифичные стволовые клетки. Тканеспецифичные стволовые клетки способны дифференцироваться в другие типы клеток, но *in vivo*, но этот процесс малоэффективен. Тем не менее сейчас разрабатываются подходы, которые делают возможным использование этого источника стволовых клеток [68];

– ангиогенные стволовые клетки – процесс васкулогенеза сходен с эмбриональным процессом, в котором «гемангиобласты» дифференцируются в клетки крови, также, как и в примитивные сосуды. Хотя и обусловленный клетками, происходящими из костного мозга, во взрослой жизни васкулогенный восстановительный механизм вносит лишь небольшой вклад в механизмы восстанов-

ления сосудов: а именно ангиогенез (рост сосудов из существующих сосудов); и артериогенез (направляемое моноцитами увеличение калибра существующих артериолярных коллатералей) [33];

– малые гепатоциты – впервые описаны и выделены Митакой и соавт [46] из непаренхимной фракции печени крыс в 1995 г. Малые гепатоциты из печени крыс с искусственным (химически индуцированным) поражением печени или с частичным удалением печени (гепатотектомией) могут быть выделены методом дифференциального центрифугирования. Данные клетки обладают меньшим размером, чем обычные гепатоциты, могут размножаться и дифференцироваться в зрелые гепатоциты в условиях *in vitro* [15; 59];

– эпителиальные клетки печени – популяция эпителиальных клеток печени была впервые обнаружена у взрослых крыс в 1984 г [66]. Эти клетки имеют репертуар поверхностных маркеров, перекрывающийся, но все же несколько отличающийся от фенотипа гепатоцитов и дуктальных клеток. Пересадка эпителиальных клеток в печень крыс привела к формированию гепатоцитов, экспрессирующих типичные гепатоцитарные маркеры – альбумин, альфа-1-антитрипсин, тирозиновую трансминазу и трансферрин. Данная популяция клеток-предшественников была обнаружена и у человека. Эпителиальные клетки фенотипически отличаются от овальных клеток и могут в условиях *in vitro* дифференцироваться в гепатоцитоподобные клетки. Опыты по пересадке эпителиальных клеток в печень мышей линии с врожденным иммунодефицитом показали способность данных клеток дифференцироваться в гепатоциты, экспрессирующие альбумин спустя месяц после трансплантации [30].

Свойства СК

Биологическая значимость стволовых клеток заключается в том, что они являются центральным элементом структурно-функциональных единиц тканей и органов. Стволовые клетки отличаются от других зрелых клеточных популяций в связи с их уникальной способностью самовосстанавливаться и диффе-

ренцироваться в различные клеточные типы органа и ткани. Последняя способность становится более ограниченной, так как развитие прогрессирует, приводя к иерархии стволовых клеток [75]. Например, в начале развития клетки из внутренней клеточной массы бластоцисты считаются плюрипотентными стволовыми клетками, потому что они способны дать начало всем клеточным линиям за исключением эмбриональных тканей. Так внутренняя стенка бластоцисты выстлана короткоживущими стволовыми клетками, а именно – эмбриональными. Бластоцисты состоят из двух различных типов клеток: внутренней клеточной массы, которая развивается в эпибласты и индуцирует развитие плода, и трофэктодермы. Трофэктодерма продолжает развиваться и формирует экстраэмбриональные опорные структуры, необходимые для успешного развития эмбриона [78].

С началом органогенеза происходит ограничение потенциала стволовых клеток, как результат «принятия» решения к тканеспецифической дифференцировке [21]. Примером этого является мужская зародышевая линия, в которой потенциал самовозобновления стволовых сперматогониальных клеток ограничивается жизнью сперматогониев во взрослом организме [47].

Стволовые клетки существуют в организме в определенном микроокружении – ниша, в пределах которой совокупность факторов обеспечивает жизнеспособность и самовоспроизведение стволовых и дифференциацию дочерних транзиторных клеток (наличие базальной мембраны, молекул внеклеточного матрикса и присутствие соседних клеток, продуцирующих факторы роста и другие регуляторные молекулы). Ниша активно участвует в регуляции пролиферации и дифференциации стволовых клеток, обеспечивает самоподдержание стволовых клеток и длительное их пребывание в состоянии покоя. Стволовые клетки прочно закреплены в нише молекулами адгезии, в частности интегринами. Ниши являются частью структурно-функциональных единиц, из которых состоят ткани [23].

Помимо «заместительного» эффекта участие СК в регенерации печени может быть опосредовано ростовыми факторами и цитокинами. Известно, что процессы регенерации в печени при ее повреждении сопряжены с активацией многих цитокинов, включая фактор некроза опухоли-альфа, интерлейкины 1 и 6, фактор роста гепатоцитов (HGF), трансформирующий рост фактор-бета (TGF-бета), макрофагальный воспалительный протеин-2 (MIP-2), фактор стволовых клеток (SCF) и другие [4; 24].

Пролиферация стволовых клеток

Пролиферация соматических стволовых клеток имеет решающее значение для поддержания тканевого гомеостаза посредством регенерации тканей. Многочисленные физиологические системы модулируют пролиферацию соматических стволовых клеток, изменяя скорость обновления, количество продуцируемых клеток или соотношение дифференцированных типов дочерних клеток [11; 57; 82]. Все эти результаты в конечном итоге приводят к функциональным изменениям в ткани.

Печень известна как орган с высоким потенциалом пролиферации. Изучение клеточного происхождения и углубление понимания механизмов регенерации печени поможет определить новые направления лечения заболеваний печени. С развитием и применением технологии отслеживания клонов были проиллюстрированы специфическое распределение и динамические изменения субпопуляций гепатоцитов в гомеостазе и повреждении печени. Самовоспроизведение гепатоцитов отвечает за поддержание функции печени и массы в условиях гомеостаза. Компенсаторная пролиферация оставшихся гепатоцитов является основным механизмом регенерации печени после строго и хронического повреждения печени [25].

В нормальных условиях регенерация печени приписывается взрослым гепатоцитам. Тем не менее, когда повреждение печени тяжелое и/или предотвращается пролиферация гепатоцитов, то стволовые/прогениторные клетки печени (LS/PCs) участвуют в управлении регенерации для поддержания массы и функ-

ций печени. Было показано, что эта вторая линия регенерации, которая обеспечивается как внутripеченочными, так и внепеченочными клетками-предшественниками печени, определяет процессы трансдифференцировки между гепатоцитами и другими клетками печени [40].

Дифференцировка стволовых клеток

Химические и физические свойства окружающей среды способствуют росту и дифференцированию стволовых клеток и, следовательно, играют решающую роль в регуляции деления стволовых клеток [73]. Одним из уникальных свойств стволовых клеток является то, что при определенных условиях они способны дифференцироваться в альтернативном линейном направлении. Это явление получило название «трансдифференцировки» или «пластичности».

МСК являются мультипотентными стволовыми клетками и должны соответствовать, по крайней мере, следующим критериям, заявленным Обществом клеточной терапии [20]. Во-первых, МСК должны быть пластически адгезионными в стандартных условиях культивирования. Во-вторых, МСК должны экспрессировать CD105, CD73 и CD90 и не экспрессировать CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79 α или CD19 и HLA-DR поверхностные молекулы. В-третьих, МСК должны дифференцироваться в остеобласты, адипоциты и хондробласты *in vitro*, обладать высоким дифференцирующим потенциалом и низкой иммуногенностью и могут быть выделены из различных тканей, включая костный мозг, жировую ткань, мышцы, периферическую кровь, плаценту, пуповину и пульпу зубов [8; 27; 53]. При введении в печень МСК способны мигрировать в поврежденный участок ткани и секретируют факторы роста, связанные с регенерацией печени, которые, в свою очередь, стимулируют пролиферацию клеток, усиливают ангиогенез и сдерживают апоптоз [36; 38; 72]. Кроме того, МСК способствуют регенерации печени путем иммуномодуляции за счет высвобождения растворимых факторов (например, оксида азота (NO), простагландина E2 (PGE2), IL6 или IL10). Это, в свою очередь, приводит к снижению регуляции T-

клеток, ингибированию В-клеток или благоприятной модуляции повреждения печени, что приводит к активации воспалительных макрофагов.

Гетерогенность популяции стволовых клеток

Как правило, типы клеток определяются на основе экспериментально наблюдаемых признаков, таких как морфология клеток, паттерны экспрессии генов и белков, а также способность выполнять специализированные функции. В последнее время все чаще стали выводить карты происхождения клеток с использованием отслеживания клеточной линии с помощью визуализации [31; 43] и, все чаще, секвенирования генетических рубцов, индуцированных CRISPR / CAS9 [9; 29; 44]. Эти карты происхождения помогают показать, как различные типы клеток образуются во время развития регулярным и воспроизводимым способом. Исследования по отслеживанию происхождения с использованием вирусного штрихкодирования или генетических репортеров также помогли выяснить регенеративный потенциал отдельных стволовых клеток и, следовательно, механизмы, с помощью которых поддерживается количество клеток, находящихся в непрерывном обороте во взрослом организме [41; 48].

Из этих исследований становится все более очевидным, что многие функциональные типы клеток очень гетерогенны в том смысле, что клетки в различных молекулярных состояниях (т.е. экспрессирующие разные паттерны генов и белков) могут выполнять одну и ту же функцию [62].

Ярким примером является роль митотической памяти в регуляции функции популяций стволовых клеток. Было замечено, что деления сестринских клеток ГСК не синхронизированы друг с другом *in vitro*, и отдельные ГСК могут сильно различаться как по времени клеточного цикла, так и по скорости, с которой они вступают в клеточный цикл [55]. В некоторых случаях эта изменчивость может быть вызвана гетерогенностью популяции в отношении скорости клеточного цикла. Однако это не всегда так, изменчивость во времени клеточного цикла возникает естественным образом, либо из-за присущей им стоха-

стичности, либо из-за сложного детерминизма в молекулярных механизмах, которые управляют делением клеток [76].

Гетерогенность также наблюдается и в экспрессии маркеров. Например, длительное время считали, что стволовые гемопоэтические клетки обязательно несут маркер CD34+, однако было доказано, что и клетки CD34- также могут быть стволовыми.

Хоуминг стволовых клеток

В биологии стволовых клеток хоумингом называется поселение стволовых клеток в месте повреждения (в широком смысле слова) и поселение трансплантата гемопоэтических клеток в костный мозг (в узком смысле слова). Процесс миграции представлен несколькими отличительными этапами и начинается с взаимодействия сопротивления и адгезии между клетками, протекающими через кровотоки и сосудистый эндотелий.

Первый шаг опосредован хоумингом рецепторов, находящихся на поверхности циркулирующих клеток, которые взаимодействуют с соответствующими ко-рецепторами, расположенными на эндотелии. Их взаимодействие приводит к соединению циркулирующих клеток с эндотелием и индуцирует скользящий эффект на поверхности клетки. Этот шаг обычно связан с хемокин-индуцированной активацией интегринов, плотной адгезией циркулирующих клеток с эндотелием и последующим выходом из сосудов [22; 77].

Достижения в области клеточных биологических исследований за последние два десятилетия расширили спектр использования стволовых клеток во время процессов заживления ран, и в частности, недавнее понимание движения стволовых клеток и их хоуминга побудило к регенеративным исследованиям и терапии [37].

Точные механизмы, регулирующие хоуминг и процесс приживления гемопоэтических стволовых клеток, по-прежнему не полностью понятны. Однако, были выявлены несколько молекул, которые необходимы для модуляции этих процессы через регулировку адгезии и миграции гемопоэтических стволо-

вых клеток. Примерами таких молекул являются селектины семейства молекул адгезии (E- и P-selectin); интегрины, в частности $\alpha_4\beta_1$ очень позднего антигена-4 (VLA-4) в ассоциации с молекулой адгезии 1 (VCAM-1) сосудистых клеток и хемокины CXCL12 (также известный как SDF-1) и G-белок, связывающий рецептор CXCR4. Хотя использование экзогенных лигандов или блокирующих антител позволило выявить и охарактеризовать эти важнейшие молекулы клеточной поверхности, внутриклеточные медиаторы адгезии были более сложными для оценки, особенно в клетках человека [54]. Хемокины являются наиболее важными факторами, которые регулируют миграцию клеток [37].

Рекрутирование (мобилизация) стволовых клеток

Под мобилизацией понимают увеличение числа ГСК клеток-предшественниц костного мозга в периферической крови под действием различных стимулирующих факторов. Роль сигналов к мобилизации могут выполнять естественные биологические регуляторы (цитокины), а также продукты внешнего воздействия, например, лекарственные препараты при химиотерапии. Сам по себе выход ГСК из костного мозга является физиологическим процессом, при этом циркулирующие в кровяном русле клетки могут вновь «вернуться» в костный мозг. Биологическое значение выхода (рекрутинга) и возвращения (хоуминга) ГСК связывают с защитой (например, от токсических повреждений) и поддержанием постоянного числа ГСК в костном мозге (гомеостатический механизм) [2].

Высокомобильный групповой белок 1 (High mobility group box 1) (HMGB1) это негистоновый белок, который может действовать как цитокин, регулирующий различные биологические процессы, такие, как воспаление, миграция клеток и метастазирование. HMGB1 может пассивно высвобождаться клетками, которые погибают в результате травмы или непрограммируемым путем, и может быть сигналом повреждения тканей. HMGB1 может рекрутировать стволовые клетки [51].

Результаты последних исследований на экспериментальных животных и клинические протоколы продемонстрировали важное участие хемокинов, таких, как фактор 1 (stromal derived factor-1 (SDF-1)) и интерлейкин-8, эластаза и катепсин G в процессе мобилизации [35].

Маркеры стволовых клеток

Морфологические признаки не позволяют провести четкую границу между стволовыми и транзиторными клетками. Поэтому для идентификации стволовых клеток нужны иные маркеры.

Стволовые клетки были идентифицированы и охарактеризованы в различных тканях. Обсуждаются возможные общие свойства стволовых клеток. Высказано предположение, что независимо от их линейного происхождения, стволовые клетки отвечают сходным образом на регуляторные сигналы самообновления и дифференцировки, и похоже на то, что контроль клеточного цикла, контроль асимметрии/дифференцировки, механизмы клеточной защиты и репарации ДНК и связанные апоптоз/старение сигнальные пути имеют более высокий уровень регуляции в стволовых клетках, возможно, за счет сходных механизмов. Предложен набор генов-кандидатов, специфичных для стволовых клеток [70; 81].

Печеночные стволовые клетки являются мультипотентными клетками, их можно обнаружить с помощью эпителиальной молекулы клеточной адгезии (EPCAM), CD133, SOX9, цитокератинов (СК) 7/8/18/19, нейронной молекулы адгезии клеток (NCAM), а также маркеров, связанных с энтодермой, таких как CXCR4, SOX17, и ген FOXA2. Они не выделяют альфа-фетопротеин (AFP), молекулу межклеточной адгезии (ICAM) 1, цитохром P450s и показывают только слабое или незначительное выражение альбумина (ALB) [18]. Также выделяют маркеры гемопоэтических (CD34, CD38, CD45, CD90), эндотелиальных (VEGFr, CD31) и мезенхимальных клеток (CD146, desmin, CD105) [49; 56].

Лучше всего изучены маркеры гемопоэтических стволовых клеток. Известны маркеры для стволовых и прогениторных нейральных клеток, например

Musashi 1. Одним из характерных маркеров эмбриональных стволовых клеток является Oct4. Много исследований было посвящено иммунофлуоресцентному выявлению маркеров эпидермальных стволовых клеток. Среди предложенных маркеров можно отметить кератин 19, интегрин b1, внутриклеточный белок rb3. Однако все известные в настоящее время маркеры не позволяют с полной уверенностью отделить стволовые клетки от транзиторных. Как было указано ранее, между этими двумя группами клеток наблюдается постепенный переход.

СКК и стволовые клетки печени (овальные клетки) несут сходные поверхностные маркеры (CD34, c-kit, и Thyl). Детальная фенотипическая характеристика СКК позволила выявить их гетерогенность и предположить, что определенные их субпопуляции способны дифференцироваться в гепатоциты [4].

Генетика стволовых клеток

Дифференциация стволовых клеток (гемопозитических и негемопозитических) рассматривалась иерархичной по природе, но последние данные указывают на то, что не существует иерархии клетка-прогенитор/стволовая клетка. Дифференциация представляется зависимым от изменений в хроматине экспрессии генов по мере прохождения клеточного цикла (ремоделирование хроматина). Отмечается вступление в новую эру биологии стволовых клеток – эру «хроматиномики» [17].

Болезни стволовых клеток

Рассматриваются две группы болезней стволовых клеток: болезни мезенхимальных клеток и органоспецифичные болезни стволовых клеток. Связанные с возрастом болезни, такие, как болезнь Альцгеймера, остеопороз и фиброз легких принадлежат к первой, в то время как карциносаркома в легких и аденокарцинома эндокринных клеток принадлежит ко второй [26].

Применение СК

Существующее несоответствие между большим спросом на трансплантацию печени и количеством доступных донорских органов подчеркивает острую потребность в альтернативных терапевтических стратегиях у пациентов с

острой или хронической печеночной недостаточностью. Ежегодно регистрируется более 2 млн смертей от болезней печени; из них 1 млн смертей связаны с циррозом печени или его осложнениями [12]. Цирроз печени является терминальной стадией многих заболеваний печени (вирусный гепатит, неалкогольная жировая болезнь печени и др.) и метаболические заболевания (болезнь Вильсона-Коновалова и др.) [83]. В 50% случаев развивается цирроз печени, связанный с токсическим действием алкоголя [13].

Быстро растущие знания о биологии стволовых клеток и внутренних процессах восстановления печени открыли новые возможности для использования стволовых клеток в качестве платформы клеточной терапии в регенеративной медицине при заболеваниях печени. Использование либо в виде клеточных суспензий, либо в сочетании с биоматериалами в качестве имплантируемых конструкций ткани печени открывает большие перспективы для регенерации печени [67].

В последнее время мезенхимальные стромальные клетки (МСК), а также их экзосомы стали революционным инструментом в контексте тканевой инженерии и регенеративной медицины. МСК благодаря своей способности образовывать клетки кожи, а также их уникальному свойству подавлять воспаление в месте раны привлекают все большее внимание ученых. Кроме того, другие способности МСК индуцировать ангиогенез в результате секреции проангиогенных факторов, сопровождающихся выраженной антифиброзной активностью, которая в основном опосредована высвобождением матриксной металлопротеиназы (ММП), делают их рациональной и эффективной стратегией для ускорения заживления ран [14].

Список литературы

1. Киясов А.П. Овальные клетки предполагаемые стволовые клетки печени или гепатобласты? / А.П. Киясов, А.А. Гумерова, М.А. Титова // Гены и клетки. – 2006. – №2 (4). – С. 55–58.

2. Курабекова Р.М. Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток при трансплантации и резекции печени / Р.М. Курабекова, О.М. Цирульникова, О.П. Шевченко // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – №12 (4). – С. 86–92.

3. Лызигов А.Н. Механизмы регенерации печени в норме и при патологии / А.Н. Лызигов, А.Г. Скуратов, Б.Б. Осипов // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – №1. – С. 4–9.

4. Лызигов А.Н. Роль стволовых клеток в регенерации печени и перспективы их использования в лечении печеночной недостаточности (обзор литературы) / А.Н. Лызигов, А.Г. Скуратов, Е.В. Воропаев, А.А. Призенцов // Проблемы здоровья и экологии. – 2012. – №2 (32). – С. 7–13.

5. Онищенко Н.А. Синусоидальные клетки печени и клетки костного мозга как компоненты единой функциональной системы регуляции восстановительного морфогенеза в здоровой и поврежденной печени / Н.А. Онищенко, А.В. Люндуп, Р.В. Деев [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – №2 (6). – С. 78–92.

6. Терских В.В. Стволовые клетки: эволюция концепции / В.В. Терских, А.В. Васильев, Е.А. Воротеяк // Вестник дерматологии и венерологии. – 2005. – №2. – С. 4–8.

7. Addante A., González-Corralejо C., Roncero C., Lazcanoiturburu N., García-Sáez J., Herrera B., Sánchez A. BMP9 Promotes an Epithelial Phenotype and a Hepatocyte-like Gene Expression Profile in Adult Hepatic Progenitor Cells. // Cells. – 2022. – №11 (3). – P. 365.

8. Afshari, A., Shamdani, S., Uzan, G.; Naserian, S., Azarpira, N. Different approaches for transformation of mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells // Stem cell research & therapy. – 2020. – №11.

9. Alemany, A., Florescu, M., Baron, C. S., Peterson-Maduro, J. & van Oudenaarden, A. Whole-organism clone tracing using single-cell sequencing // Nature. – 2018. – №556. – С. 108–112.

10. Al-Shafie, Tamer A., et al. A cost-saving technique of human somatic liver stem cells isolation for ex vivo propagation and characterization // International Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (IJPBCS). – 2015. – №4. – С. 41–53.

11. Andres SF, Santoro MA, Mah AT, Keku JA, Bortvedt AE, Blue RE, Lund PK. Deletion of intestinal epithelial insulin receptor attenuates high-fat diet-induced elevations in cholesterol and stem, enteroendocrine, and Paneth cell mRNAs // American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology. – 2015. – №308(2). – С. 100–111.

12. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world // Journal of hepatology. – 2019. – №70 (1). – С. 151–171.

13. Bataller R., Gao B. Liver fibrosis in alcoholic liver disease // Seminars in liver disease. – 2015. – №35 (2). – С. 146–156.

14. Bian D, Wu Y, Song G, Azizi R, Zamani A. The application of mesenchymal stromal cells (MSCs) and their derivative exosome in skin wound healing: a comprehensive review // Stem Cell Research & Therapy. – 2022. – № Jan 13(1).

15. Blau BJ, Miki T. The role of cellular interactions in the induction of hepatocyte polarity and functional maturation in stem cell-derived hepatic cells // Differentiation. – 2019. – №106. – С. 42–48.

16. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells / B.E. Petersen [et al.] // Science. – 1999. – № 284. – С. 1168–1170.

17. Cerny J, Quesenberry PJ. Chromatin remodeling and stem cell theory of relativity. Journal of cellular physiology. – 2004. – №201 (1). – С. 1–16.

18. Chaudhari P, Tian L, Deshmukh A, Jang YY. Expression kinetics of hepatic progenitor markers in cellular models of human liver development recapitulating hepatocyte and biliary cell fate commitment // Experimental biology and medicine (Maywood). – 2016. – №241 (15). – С. 1653–62.

19. DeLeve LD, Maretti-Mira AC. Liver sinusoidal endothelial cell: an update // Seminars in liver disease. – 2017. – №37 (4). – С. 377–387.

20. Dominici M., Le Blanc K.; Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells // The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. – 2006. – №8. – С. 315–317.

21. Eckfeldt CE, Mendenhall EM, Flynn CM, Wang TF, Pickart MA, Grindle SM, Ekker SC, Verfaillie CM. Functional analysis of human hematopoietic stem cell gene expression using zebrafish // *PLoS biology*. – 2005. – №3 (8). – С. 1449–1458.

22. Eggenhofer E, Luk F, Dahlke MH, Hoogduijn MJ. The life and fate of mesenchymal stem cells // *Frontiers in immunology*. – 2014. – №5.

23. Fukuda T, Takayama K, Hirata M, Liu YJ, Yanagihara K, Suga M, Mizuguchi H, Furue MK. Isolation and expansion of human pluripotent stem cell-derived hepatic progenitor cells by growth factor defined serum-free culture conditions // *Experimental cell research*. – 2017. – №352 (2). – С. 333–345.

24. Galun E, Axelrod JH. The role of cytokines in liver failure and regeneration: potential new molecular therapies // *Biochimica et biophysica acta*. – 2002. – №1592 (3). – С. 345–58.

25. Huang Ru, Zhang Xin, Gracia-Sancho Jordi, Wei-Fen Xie Liver regeneration: Cellular origin and molecular mechanisms // *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver*. – 2022.

26. Ikehara S. A new concept of stem cell disorders and their new therapy // *Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research*. – 2003. – №12 (6). – С. 643–53.

27. Iwanaka T., Yamaza T., Sonoda S., Yoshimaru K., Matsuura T., Yamaza H.; Ohga, S., Oda, Y., Taguchi T. A model study for the manufacture and validation of clinical-grade deciduous dental pulp stem cells for chronic liver fibrosis treatment // *Stem cell research & therapy*. – 2020. – №11.

28. Jaramillo M, Yeh H, Yarmush ML, Uygun BE. Decellularized human liver extracellular matrix (hDLM)-mediated hepatic differentiation of human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) // *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. – 2018. – №12 (4). – С. 1962–1973.

29. Kalhor R., Kalhor K., Mejia L., Leeper K., Graveline A., Mali P. & Church G. M. Developmental barcoding of whole mouse via homing crispr // *Science*. – 2018. – №361.

30. Kang SJ, Park YI, Hwang SR, Yi H, Tham N, Ku HO, Song JY, Kang HG. Hepatic population derived from human pluripotent stem cells is effectively increased by selective removal of undifferentiated stem cells using YM155 // *Stem cell research & therapy*. – 2017. – №8 (1).

31. Keller P. J., Schmidt A. D., Wittbrodt J. & Stelzer E.H. Reconstruction of zebrafish early embryonic development by scanned light sheet microscopy // *Science*. – 2008. – №322. – С. 1065–1069.

32. Koçak H. Liver regeneration: potential roles of mesenchymal stem cells and toll like receptors // *Molecular Biology and Genetics Supervisors*. – 2008. – 89 с.

33. Koike H, Taniguchi H. Characteristics of hepatic stem/progenitor cells in the fetal and adult liver // *Journal of hepatobiliary pancreatic sciences*. – 2012. – №19 (6). – С. 587–93.

34. Kordes C, Sawitza I, Götze S, Schumacher E, Häussinger D. Beyond fibrosis: stellate cells as liver stem cells // *Zeitschrift für Gastroenterologie*. – 2015. – №53 (12). – С. 1425–31.

35. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells // *Experimental hematology*. – 2002. – №30 (9). – С. 973–81.

36. Lee J., Choi J., Kang S., Kim J., Lee R., So S., Yoon Y.I., Kirchner V.A., Song G.W., Hwang S. [et al.] Hepatogenic Potential and Liver Regeneration Effect of Human Liver-derived Mesenchymal-Like Stem Cells // *Cells*. – 2020. – №9.

37. Li X. Levels of hepatic Th17 cells and regulatory T cells upregulated by hepatic stellate cells in advanced HBV-related liver fibrosis / X. Li, Y. Su, X. Hua, C. Xie, J. Liu, Y. Huang, L. Zhou, M. Zhang, X. Li, Z. Gao // *Journal of translational medicine*. – 2017. – №15 (1). – С. 75.

38. Li T., Xia M., Gao Y., Chen Y., Xu Y. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: An overview of their potential in cell-based therapy // Expert opinion on biological therapy. – 2015. – №15. – C. 1293–1306.

39. Liu WH, Ren LN, Chen T, You N, Liu LY, Wang T, Yan HT, Luo H, Tang LJ. Unbalanced distribution of materials: the art of giving rise to hepatocytes from liver stem/progenitor cells // Journal of cellular and molecular medicine. – 2014. – №18 (1). – C. 1–14.

40. López-luque J., Fabregat I. Revisiting the liver: from development to regeneration – what we ought to know! // The International Journal of Developmental Biology. – 2018. – №62. – C. 441–451.

41. Lu, R., Czechowicz, A., Seita, J., Jiang, D. & Weissman, I. L. Clonal-level lineage commitment pathways of hematopoietic stem cells in vivo // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2019. – №116 (4). – C. 1447–1456.

42. Ma H., Yang Y., Sun Y., Ma M. Studies of granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) in renal stem cells regeneration // Stem Cell. – 2011. – №2 (1). – C. 36–65.

43. McDole K., Guignard L., Amat F., Berger A., Malandain G., Royer L.A., Turaga S.C., Branson K. & Keller P. J. In toto imaging and reconstruction of post-implantation mouse development at the single-cell level // Cell. – 2018. – №175 (3). – C. 859–876

44. McKenna A., Findlay G.M., Gagnon J.A., Horwitz M.S., Schier A.F. & Shendure J. Whole-organism lineage tracing by combinatorial and cumulative genome editing // Science. – 2016. – №353.

45. Michalopoulos GK, Khan Z. Liver stem cells: experimental findings and implications for human liver disease // Gastroenterology. – 2015. – №149 (4). – C. 876–882.

46. Mitaka T., Kojima T., Mizuguchi T., Mochizuki Y. Growth and maturation of small hepatocytes isolated from adult rat liver // Biochemical and biophysical research communications. – 1995. – №214 (2). – C. 310–317.

47. Müller P., Lemcke H., David R. Stem Cell Therapy in Heart Diseases – Cell Types, Mechanisms and Improvement Strategies // Cellular physiology and biochemistry. – 2018. – №48 (6). – С. 2607–2655.

48. Nguyen L.V., Makarem M., Carles A., Moksa M., Kannan N., Pandoh P., Eirew P., Osako T., Kardel M., Cheung A.M. [et al.] Clonal analysis via barcoding reveals diverse growth and differentiation of transplanted mouse and human mammary stem cells // Cell Stem Cell. – 2014. – №14 (2). – С. 253–263.

49. Overi D., Carpino G., Cardinale V. [et al.] Contribution of resident stem cells to liver and biliary tree regeneration in human diseases // International Journal of Molecular Sciences. – 2018. – №19.

50. Paku S., Dezso K., Kopper L., Nagy P. Immunohistochemical analysis of cytokeratin 7 expression in resting and proliferating biliary structures of rat liver // Hepatology. – 2005. – №42 (4). – P. 863–870.

51. Palumbo R, Bianchi ME. High mobility group box 1 protein, a cue for stem cell recruitment // Biochemical pharmacology. – 2004. – №68 (6). – С. 1165–1170.

52. Pan G, Liu J. Small molecules and extrinsic factors promoting differentiation of stem cells into insulin-producing cells // Ann Endocrinol (Paris). – 2019. – №80 (2). – С. 128–133.

53. Pittenger M.F., Discher D.E., Peault B.M., Phinney D.G., Hare J.M., Caplan A.I. Mesenchymal stem cell perspective: Cell biology to clinical progress // The New England journal of medicine. – 2019. – №4. – С. 22.

54. Rak J., Foster K., Potrzebowska K., Talkhonchek MS, Miharada N., Komorowska K., Torngren T., Kvist A., Borg Å., Svensson L., Bonnet D., Larsson J. Cytokines 1 regulates homing and engraftment of human hematopoietic stem and progenitor cells // Blood. – 2017. – №129 (8). – С. 950–958.

55. Roch A., Giger S., Girotra M., Campos V., Vannini N., Naveiras O., Gobaa S. & Lutolf M.P. Single-cell analyses identify bioengineered niches for enhanced maintenance of hematopoietic stem cells // Nature Communications. – 2017. – №8 (1). – С. 221.

56. Romano M., De Francesco F., Pirozzi G., Gringeri E., Boetto R., Di Domenico M., Zavan B., Ferraro GA, Cillo U. Expression of cancer stem cell biomarkers as a tool for a correct therapeutic approach to hepatocellular carcinoma // *Oncoscience*. – 2015. – №2 (5). – C. 443–456.

57. Santos AJM, Lo YH, Mah AT, Kuo CJ. The Intestinal Stem Cell Niche: Homeostasis and Adaptations // *Trends in cell biology*. – 2018. – №28 (12). – C. 1062–1078.

58. Schmelzer E. Hepatic progenitors of the fetal liver: Interactions with hematopoietic stem cells // *Differentiation*. – 2019. – №106. – C. 9–14.

59. Sidler Pfändler MA, Höchli M, Inderbitzin D, Meier PJ, Stieger B. Small hepatocytes in culture develop polarized transporter expression and differentiation // *Journal of cell science*. – 2004. – №117. – C. 4077–4087.

60. Skurikhin E.G., Zhukova M.A., Pan E.S., Ermakova N.N., Pershina O.V., Pakhomova A.V., Putrova O.D., Sandrikina L.A., Krupin V.A., Kogai L.V., Rebrova T.Yu., Afanas'ev S.A., and Dygai A.M. Age-Related Features of the Response of the Liver and Stem Cells during Modeling of Liver Cirrhosis // *Cell Technologies in Biology and Medicine*. – 2021. – №1. – C. 127–133.

61. Spee B., Carpino G., Schotanus B. A., Katoonizadeh A., Borght S. V., Gaudio E., Roskams T. Characterisation of the liver progenitor cell niche in liver diseases: potential involvement of Wnt and Notch signalling. // *Gut*. – 2010. – №59 (2). – P. 247–257.

62. Stumpf PS, Arai F, MacArthur BD. Heterogeneity and 'memory' in stem cell populations // *Physical biology*. – 2020. – №17 (6).

63. Szücs A, Paku S, Sebestyén E, Nagy P, Dezső K. Postnatal, ontogenic liver growth accomplished by biliary/oval cell proliferation and differentiation // *PLoS One*. – 2020. – №15 (5).

64. Tarnowski M., Koryciak-Komarska H., Czekał P., Sebesta R., Czekał T.M., Urbanek K., Likus W., Malinowska-Kolodziej I., Plewka D., Nowaczyk-Dura G., Wiaderekiewicz R., Sieron A.L. The comparison of multipotential for differentiation

of progenitor mesenchymal-like stem cells obtained from livers of young and old rats. // *Folia Histochemica et Cytobiologica*. – 2007. – №45 (3). – P. 245–54.

65. Toi M, Hayashi Y, Murakami I. Hepatic stellate cells derived from the nestin-positive cells in septum transversum during rat liver development // *Medical molecular morphology*. – 2018. – №51 (4). – C.199–207.

66. Tsao MS, Smith JD, Nelson KG, Grisham JW. A diploid epithelial cell line from normal adult rat liver with phenotypic properties of 'oval' cells. *Exp Cell Res*. 1984 Sep; 154 (1) : 38–52. – doi: 10.1016/0014–4827(84)90666–9. PMID: 6468534.

67. Tsolaki E, Yannaki E. Stem cell-based regenerative opportunities for the liver: State of the art and beyond // *World journal Gastroenterol*. – 2015. – №21 (43). – C. 12334–50.

68. Van Haele M, Roskams T. Hepatic Progenitor Cells: An Update // *Gastroenterology clinics of North America*. – 2017. – №46(2). – C. 409–420.

69. Vestentoft P.S. Development and molecular composition of the hepatic progenitor cell niche. // *Danish medical journal*. – 2013. – №60 (5).

70. Walkup, M.H., Gerber, D.A. Hepatic stem cells: in search of // *Stem Cells*. – 2006. – №24. – C. 1833–1840.

71. Wang B, Zhao L, Fish M, Logan CY, Nusse R. Self-renewing diploid Axin2(+) cells fuel homeostatic renewal of the liver // *Nature*. – 2015. – №524. – C. 180–185.

72. Wang J., Sun M., Liu W., Li Y., Li M. Stem Cell-Based Therapies for Liver Diseases: An Overview and Update // *Tissue engineering and regenerative medicine*. – 2019. – №16. – C. 107–118.

73. Wei M. Nanomaterials modulate stem cell differentiation: biological interaction and underlying mechanisms / M. Wei, S. Li, W. Le // *Nanobiotechnology*. – 2017. – Vol. 15 (1). – P. 75.

74. Wilson J.W. and Leduc, E.H. (1958). Role of cholangioles in restoration of the liver of the mouse after dietary injury. *J. Pathol. Bacteriol*. 76, 441–449.

-
75. Yanger K., Zong Y., Maggs L.R., Shapira S.N., Maddipati R., Aiello N.M., Thung S.N., Wells R.G., Greenbaum L.E., and Stanger B.Z. Robust cellular reprogramming occurs spontaneously during liver regeneration // *Genes & Development*, 2013. – №27 (7). – C. 719–724.
76. Yates C.A., Ford M.J. & Mort R.L. (2017), A multi-stage representation of cell proliferation as a markov process // *Bulletin of mathematical biology*. – 2017. – №79 (12). – C. 2905–2928
77. Zachar L, Bačenková D, Rosocha J. Activation, homing, and role of the mesenchymal stem cells in the inflammatory environment // *Journal of inflammation research*. – 2016. – №9. – C. 231–240.
78. Zakrzewski W, Dobrzyński M, Szymonowicz M, Rybak Z. Stem cells: past, present, and future // *Stem cell research & therapy*. – 2019. – №10(1).
79. Zhang B., Wu X., Li J., Ning A., Zhang B., Liu J., Song L., Yan C., Sun X., Zheng K., Wu Z. Hepatic progenitor cells promote the repair of schistosomiasis liver injury by inhibiting IL-33 secretion in mice. // *Stem cell research and therapy*. – 2021. – №12 (1). – P. 546.
80. Zhang L, Theise N, Chua M, Reid LM. The stem cell niche of human livers: symmetry between development and regeneration // *Hepatology*. – 2008. – №48 (5). – C. 1598–607.
81. Zhang RR, Zheng YW, Li B., Nie YZ, Ueno Y., Tsuchida T., Taniguchi H. Hepatic stem cells with self-renewal and liver repopulation potential are harbored in CDCP1-positive subpopulations of human fetal liver cells // *Stem cell research & therapy*. – 2018. – №9 (1).
82. Zhou W., Liu Q., Xu B. Improvement of bone defect healing in rats via mesenchymal stem cell supernatant // *Experimental and therapeutic medicine*. – 2018. – №15 (2). – C.1500–1504.
83. Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis // *World journal of gastroenterology*. – 2014. – №20 (23). – C. 7312–7324.

84. Zimmermann A. Liver Cancer: Stem and Progenitor Cells // Tumors and Tumor-Like Lesions of the Hepatobiliary Tract. – 2017. – С. 3–26.