

## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК — ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ТЕРАПИИ XXI ВЕКА. 3. СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПЕЧЕНИ

Профессор А.Ю. ПЕТРЕНКО, академик НАН Украины В.И. ГРИЩЕНКО,  
О.В. ОЧЕНАШКО, Ю.А. ПЕТРЕНКО

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков*

**Изложена гипотеза о том, что клетки печени, полученные из эмбрионов первого триместра внутриутробного развития, при трансплантации способны восстанавливать функциональную недостаточность кроветворения, печени, поджелудочной железы и кишечника.**

В предыдущей работе [1] нами был проведен анализ литературных и собственных данных, свидетельствующих о том, что стволовые кроветворные клетки (СКК) из различных источников характеризуются пролиферативным потенциалом и способностью восстанавливать гемопоэз, т.е. существует определенная иерархия СКК, которую необходимо учитывать при их клиническом применении. Региональные стволовые клетки существуют и в других регенерирующих тканях, участвуя в обновлении поврежденных или стареющих клеток по единым механизмам, описанным нами ранее [2]. Долгое время открытым оставался вопрос: существуют ли стволовые клетки печени (СКП)? Несмотря на многочисленные попытки идентифицировать эти клетки, панель молекулярных маркеров СКП остается неразработанной. На роль СКП, по мнению разных авторов, претендуют гепатоциты, овальные клетки, гепатобласты, а также клетки экзогенного (по отношению к печени) происхождения. В последние годы накапливаются данные о том, что перечисленные претенденты на роль СКП, существующие в печени и вне ее, в той или иной степени обладают свойствами, присущими стволовым клеткам, и способны дифференцироваться в гепатоциты и холангиоциты (ХЦ) в культуре и при трансплантации. Однако до настоящего времени нет единого мнения об иерархии стволовых клеток и роли различных претендентов в развитии печени и восстановлении ее функции при клеточной недостаточности.

Целью настоящей работы является аналитический обзор последних достижений в области исследования отдельных претендентов на роль СКП в онтогенезе.

**Гепатоциты (ГЦ)** представляют собой окончательно дифференцированные клетки, составляющие 90–95% массы печени — самого крупного из внутренних органов организма. В ГЦ осуществляются биотрансформация и аккумуляция энергии, биодegradация токсических компонентов, синтез многих белков крови, секреция желчи и липопротеидов и другие функции. Кроме ГЦ в печени присутствуют другие клеточные популяции — эпителиальные клетки желчных протоков (ХЦ), клетки эндотелия, клетки Купфера (КК — макрофаги в печеночных синусоидах) и клетки Ито, функцией которых является накопление витамина А и синтез белков соединительной ткани. Все эти клетки в печени взрослого человека организованы в структурно-функциональные единицы — печеночные

дольки, состоящие из 400–600 ГЦ. На рис. 1 приведена схема строения печеночной дольки. Видно, что каждая долька расположена вокруг ЦВ и окружена по периферии прослойками соединительной ткани, содержащими портальные триады. Последние состоят из 3 сосудов: ПВ, ПА и ЖП. Паренхима печеночной дольки оказывается в различных условиях трофики и обеспечения кислородом, что позволяет выделить в ней две зоны: перивенозную и перицентральную.

В нормальной печени скорость клеточного обновления очень низка — в состоянии митоза находится всего 0,1–0,01% ГЦ. Поэтому считается, что клетки нормальной печени находятся вне клеточного цикла, т.е. в G<sub>0</sub> фазе [3]. Однако печень обладает удивительной способностью поддерживать число паренхиматозных клеток на постоянном уровне. Эта способность наиболее ярко проявляется при частичной резекции и токсическом повреждении печени. Классической экспериментальной моделью регенерации печени является резекция 2/3 ее массы (70% гепатэктомия, ГЭ). Восстановление массы печени при таком воздействии происходит в течение 1–2 нед за счет деления оставшихся ГЦ. Пролиферация последних активируется в области портальных триад уже через 12–14 часов после ГЭ, постепенно распространяется к центру дольки и достигает своего пика к 24 часам [4]. В деление вступает 70–90% ГЦ, и для полного восстановления их количества до исходного уровня остаточным клеткам достаточно поделиться 1,6 раза.

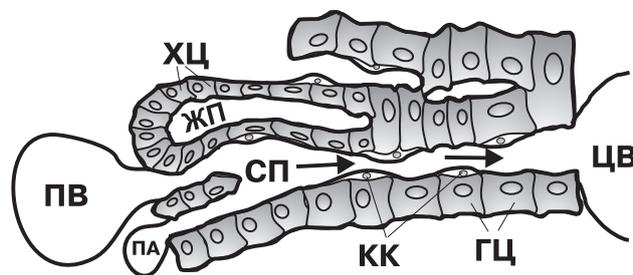


Рис. 1. Схема строения печени:

ЦВ — центральная вена; ПВ — портальная вена;  
ПА — печеночная артерия; ЖП — желчный проток;  
КК — клетка Купфера; ГЦ — гепатоцит;  
ХЦ — холангиоцит; СП — синусоидальное  
пространство. Стрелками отмечено направление  
движения крови

Регуляция пролиферации ГЦ после ГЭ — сложный многофакторный процесс, который опосредуется гормонами, факторами роста и цитокинами. Многие ростовые факторы могут стимулировать репликацию ДНК в ГЦ в первичной культуре, но по меньшей мере два из этих факторов — трансформирующий ростовой фактор  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) и фактор роста ГЦ (HGF) — могут участвовать в пролиферативном ответе *in vivo* [5; 6]. Тем не менее, точный момент, когда они начинают действовать после ГЭ, до сих пор не выяснен. Хотя TGF- $\alpha$  и HGF стимулируют синтез ДНК в культуре ГЦ, введение этих факторов в нормальную печень *in vivo* вызывает только незначительное увеличение синтеза ДНК [7]. ГЦ становятся чувствительными к действию этих ростовых факторов после того, как проходят стадию праймирования, которая длится примерно 4–6 ч после ГЭ [8]. Активация факторов транскрипции и первичный генный ответ имеют место в первые часы после ЧГЭ и, вероятно, соответствуют первичной стадии, при которой клетки переходят в стадию G1 клеточного цикла.

Исследования, проведенные в последнее время, позволили сделать предположение, что TNF- $\alpha$  и IL-6 — важные компоненты механизма, инициирующие регенерацию печени [9]. Этот вывод был сделан при работе с трансгенными мышами, лишенными рецепторов R1 для TNF- $\alpha$  и IL-6 [8]. Было показано, что TNF- $\alpha$ , передающий сигнал через TNFR1, может инициировать регенерацию и действовать через активацию IL-6. На поздних стадиях регенерации печени экспрессируется трансформирующий ростовой фактор —  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), которому отводится важная роль в терминации этого процесса [10].

Способность ГЦ к делению в экстремальных ситуациях позволила некоторым авторам [11] рассматривать их как один из кандидатов на роль стволовой клетки во взрослой печени. Основанием для этого явилась предложенная С. Potten, M. Loeffler [12] классификация классификация стволовых клеток, в соответствии с которой все стволовые клетки делятся на действительные, потенциальные и коммитированные. Действительные стволовые клетки определяются как недифференцированные клетки, способные к самообновлению, пролиферации, образованию дифференцированных потомков и регенерации ткани после повреждения. Потенциальные стволовые клетки — латентные или покоящиеся копии действительных стволовых клеток, которые в определенных условиях способны реактивироваться. Коммитированные стволовые клетки являются делящимися переходными формами к окончательно дифференцированным клеткам, способные в той или иной степени выполнять тканеспецифические функции. В соответствии с такой классификацией ГЦ могут быть отнесены к коммитированным стволовым клеткам. Однако достижения последних лет заставили пересмотреть взгляды на стволовые клетки и исключить коммитированные клетки из их числа.

В соответствии с современными взглядами, изложенными нами ранее [2], стволовая клетка должна находиться в недифференцированном состоянии и обладать способностью к самообновлению и образованию одного или нескольких типов дифференцированных

потомков. При этом обычным состоянием стволовой клетки является состояние покоя (G<sub>0</sub>-фаза клеточного цикла). ГЦ удовлетворяют последнему условию, поскольку в нормальных условиях находятся в покоящемся состоянии. В этом случае они могли бы быть отнесены к унипотентным стволовым клеткам, так как при активировании способны к производству потомков только одного типа — гепатоцитарного. Такая возможность требует серьезного обоснования, поскольку унипотентные стволовые клетки до настоящего времени обнаружены только у примитивных организмов, таких как дрозофила. Важной причиной, по которой ГЦ не могут быть отнесены к стволовым клеткам, является высокая степень их дифференцировки.

**Овальные клетки (ОК).** В отличие от унипотентных гепатоцитов в эпителии желчных протоков существуют клетки, способные дифференцироваться по крайней мере в двух — гепатоцитарном и холангиоцитарном — направлениях [13]. Впервые существование мелких недифференцированных эпителиальных клеток в печени взрослого организма было показано Е. Фарбером [14] более 40 лет назад. Он заметил, что при подавлении пролиферации гепатоцитов после 70% ГЭ 2-фторацетиламином или другими известными канцерогенами или токсинами происходит пролиферация эпителиальных клеток, позже получивших название овальных клеток [15]. В такой экспериментальной системе, когда ингибируется вступление гепатоцитов в клеточный цикл, быстрая пролиферация ОК осуществляется сначала в перипортальном пространстве, а затем распространяется на всю печеночную дольку. До настоящего времени нет единого мнения о происхождении и точной анатомической локализации ОК. Некоторые исследователи пришли к заключению, что ОК происходят из клеток в каналах Геринга (небольшой проток, соединяющий гепатоциты с клетками желчных ходов) [16], другие считают, что из перидуктулярных клеток [17].

В ОК экспрессированы гены белков, ГЦ и клеток желчных протоков: альбумин,  $\alpha$ -фетопротеин и цитokerатины 8 и 18 — для ГЦ; цитokerатины 7 и 19 — для клеток желчных протоков [18]. Более того, имеются сведения, что ОК могут дифференцироваться в линии негепатических клеток, а именно — в энтероциты или в клетки поджелудочной железы [19].

Таким образом, благодаря описанным свойствам ОК более соответствуют критериям стволовых клеток по сравнению с ГЦ: они слабо дифференцированы, способны к пролиферации и образованию по крайней мере двух типов дифференцированных потомков. По классификации Potten, Loeffler их можно отнести к потенциальным стволовым клеткам, так как в состоянии покоя они не делятся, но эта функция может быть активизирована в соответствующих условиях. Однако в настоящее время отсутствуют доказательства способности ОК к самообновлению, что не позволяет классифицировать их как истинные стволовые клетки.

**Гепатобласты (ГБ)** — эмбриональные клетки печени — происходят из энтодермы и у человека обнаруживаются с 4-й нед беременности. Известно, что гистогенез печени у млекопитающих и человека осуществляется сходным образом. У крысиных зародышей

формирование печеночного дивертикула происходит на 11-е сутки эмбриогенеза, а ГБ выявляются с 12-х суток. Дифференцировочные свойства ГБ хорошо изучены в культуре и при экспериментальной трансплантации, так как их можно изолировать из эмбриональной печени в конце 2-й нед развития крыс и мышей. Ранее считалось, что ГБ обладают исключительно бипотенциальными свойствами, поскольку при разных условиях культивирования они способны дифференцироваться в ГЦ или клетки желчных протоков, которые легко узнать по ультраструктуре и характерным маркерам [13]. Однако недавно [20] было установлено, что на 14-й день беременности в печени крыс присутствуют как бипотентные, так и унипотентные клетки. Используя метод двойного мечения клеток по маркерам альбумина,  $\alpha$ -фетопротейна и цитокератина-19 в фетальной печени крыс, авторы идентифицировали 3 фракции эпителиальных клеток:

- 1) клетки, экспрессирующие альбумин и  $\alpha$ -фетопротейн (предшественники ГЦ);
- 2) клетки, экспрессирующие цитокератины-19 (предшественники эпителия желчных протоков);
- 3) клетки, экспрессирующие все три молекулы (предшественники ГЦ и клеток желчных протоков).

Таким образом, в развивающейся печени ГБ являются основными претендентами на роль стволовых клеток, поскольку способны дифференцироваться в ГЦ и ХЦ [21]. Однако сроки их существования в недифференцированном состоянии ограничены, и во втором триместре гестации происходит их разделение на уни- и бипотентные клетки. Уже на 16-й день беременности крыс большинство ГБ дифференцируется в ГЦ или билиарные клетки.

Однако до настоящего времени не известно, является ли ГБ СКП или ее коммитированным потомком. Это обусловлено тем, что в процессе развития или регенерации печени ГБ образуют несамообновляющиеся потомки с ограниченным дифференцировочным потенциалом, в то время как по определению стволовая клетка — это самообновляющаяся клетка с клональными характеристиками, способная к множественной дифференцировке.

**Эндодермальная стволовая клетка.** Известно, что ГЦ, ХЦ, экзокринные и эндокринные клетки поджелудочной железы, а также клетки желчных протоков являются клетками эндодермального происхождения и в эмбриогенезе анатомически происходят из печеночной почки [22], возникающей в конце 3-й нед эмбриогенеза человека, когда зародыш достигает длины 3 мм. Можно предположить, что все перечисленные выше типы клеток имеют общего предшественника. В пользу такого предположения свидетельствуют данные о том, что в поджелудочной железе присутствуют недифференцированные клетки-предшественники, способные дифференцироваться в ГЦ в культуре, а при трансплантации встраиваться в печеночные дольки и выполнять печенеспецифические функции [23].

Недавно из эмбриональной печени мыши были выделены клетки, характеризующиеся фенотипом  $c\text{-Met}^+ \text{CD49}^{\text{f+}/\text{low}} c\text{-Kit}^+ \text{CD45}^- \text{TER119}^-$ , способные в культуре образовывать колонии. Эти колониеобразующие клетки («hepatic colony-forming unit in culture», H-CFU-C)

были способны к самообновлению и в течение первых 14 дней культивирования не несли специфических маркеров ГЦ или ХЦ [24]. Только на 21-й день культивирования они давали начало или альбуминпозитивным ГЦ, или цитокератин-19-позитивным ХЦ, способным образовывать структуры, подобные желчным протокам. Фенотипический анализ H-CFU-C клеток показал их существенные различия с ГЦ, несущими, как известно, маркеры двух типов клеток. Различия имели не только качественный, но и количественный характер: содержание H-CFU-C клеток было значительно ниже, чем ГБ. Более того, методом ПЦР было показано, что в культуре H-CFU-C клетки экспрессируют инсулин, глюкагон и соматостатин, являющиеся маркерами  $\beta$ -,  $\alpha$ - и  $\delta$ -клеток поджелудочной железы соответственно. При трансплантации иммунодефицитным мышам они образовывали не только ГЦ и ХЦ, но и эпителиальные клетки поджелудочной железы и желудка.

Приведенные данные позволяют рассматривать H-CFU-C клетки в качестве мультипотентной стволовой эндодермальной клетки, сохраняющей способность к самообновлению в развивающейся печени. Однако клетки с описанными свойствами существуют лишь в очень ранние сроки развития печени (у мыши до 13,5 дня, что соответствует примерно 12 нед гестации у человека), а затем это свойство теряется.

**Претенденты на СКП экзогенного происхождения.** Хотя обсуждение источника и локализации стволовых клеток в печени продолжается, появляются работы, в которых предлагаются альтернативные гипотезы происхождения СКП. Известно, что гемопоэтические стволовые клетки и ОК имеют общие маркеры, включающие  $c\text{-kit}$ , CD34, Thy-1 у грызунов и  $c\text{-kit}$ , CD34 у человека [25]. В работе В. Peterson et al. [26] впервые было продемонстрировано, что СКК костного мозга могут дифференцироваться в эпителиальные клетки немезенхимального происхождения. Эксперименты были проведены на самках крыс, у которых повреждение печени вызывали обработкой тетрахлорметаном, а регенерацию собственных ГЦ ингибировали 2-фторацетиламином. Через 2 нед после трансплантации СКК самцов донорские Y хромосомы были обнаружены в небольшом количестве гепатоцитов. Позже использование Y хромосомы в качестве маркера позволило и у человека выявить способность СКК давать рост ОК в печени, которые, в свою очередь, дифференцировались в ГЦ и билиарные клетки. Было описано два таких случая: в первом — клетки, несущие Y хромосому, были обнаружены у женщины-реципиента после трансплантации костного мозга, донором которого был мужчина [27], во втором — в печени женщины-донора, которая была трансплантирована мужчине, а затем изъята вследствие рецидива болезни [28]. В обоих случаях ГЦ, несущие Y хромосому, были четко идентифицированы. При этом встречаемость меченых клеток, хотя и варьировала в широких пределах, зависела от тяжести поражения печени: в случае рецидива гепатита С до 40% ГЦ и ХЦ были Y-позитивны, что указывает на происхождение клеток из циркулирующей крови реципиента.

Таким образом, трансплантированные СКК, обнаруженные в печени, приобретают морфологические

и фенотипические свойства ГЦ. Однако для перспективы терапевтического использования СКК для лечения печеночной патологии чрезвычайно важным остается вопрос: способны ли эти клетки выполнять печеньспецифические функции? Для решения его были проведены эксперименты на мышах с моделью фатальной наследственной тирозинемии первого типа [29]. Эта модель довольно точно воспроизводится при дефиците фермента фумарилацетоацетатгидролазы: животные страдают от прогрессирующего поражения печени и в конечном счете погибают в результате накопления фумарилацетоацетата и его предшественника малеилацетоацетата. На этой модели было показано, что трансплантация  $10^6$  нефракционированных клеток костного мозга приводила к восстановлению функции печени и предотвращала гибель животных. Использование в качестве трансплантата клеток, полученных от самцов, позволило установить 30–50% заселение донорскими клетками печени самок реципиентов. Восстановление функции печени было достигнуто на этой же экспериментальной модели при трансплантации высокоочищенных СКК [30].

В исследованиях по трансплантации кроветворных клеток авторы отметили интересную закономерность: ГЦ, образованные из кроветворных клеток донора, не диффузно распределялись в печени, а обнаруживались в виде скоплений в четко определенных местах. В этой связи следует отметить результаты наших экспериментов [31], в которых крысам с хронической печеночной недостаточностью, индуцированной обработкой тетрахлорметана в течение 3 мес, трансплантировали клетки эмбриональной печени. Ранее нами было показано [32], что большинство клеток эмбриональной печени представлено клетками гемопозитического ряда, среди которых содержание СКК значительно превышает другие известные источники. Через 2 нед после трансплантации молодые клетки с морфологическими признаками ГЦ также обнаруживались в виде групповых ансамблей. Появление скоплений молодых ГЦ сопровождалось значительным восстановлением функции печени: улучшалось

энергетическое состояние печени, снижался уровень билирубина, повышалось содержание альбумина в сыворотке крови (рис. 2). В то же время после введения бесклеточного экстракта тканей тех же эмбрионов молодые ГЦ также выявлялись, но в значительно меньшем количестве. Эти эксперименты позволили выявить роль клеток в регенерации печени. Стадиоспецифические ростовые факторы, присутствующие в эмбриональных тканях, способны стимулировать регенерацию поврежденной печени. Однако введение жизнеспособных СКК приводит к более выраженному восстановлению функции печени, вероятно, благодаря клональной экспансии клеток в поврежденных участках паренхимы.

S. Sell [17] предложил гипотезу, объясняющую роль различных стволовых клеток в обновлении печени. В соответствии с этой гипотезой в печени есть три уровня клеток, способных реагировать на снижение количества ГЦ и обладающих разным пролиферативным потенциалом:

- 1) взрослые дифференцированные ГЦ;
- 2) эндогенные стволовые клетки, которые локализованы во взрослом органе в концевых отделах желчных протоков (ОК);
- 3) экзогенные мультипотентные стволовые клетки, происходящие из циркулирующих стволовых клеток костного мозга.

Согласно мнению автора, эндогенные СКП обладают краткосрочной пролиферативной активностью, в то время как экзогенные способны делиться длительное время. Эндогенные стволовые клетки, считает Sell, происходят из клеток, ответственных за эмбриональное развитие печени, а экзогенные появляются после формирования органа. Однако здесь уместно отметить, что СКК в эмбриогенезе локализованы в печени и мигрируют в костный мозг начиная с 13-й нед развития человека. Таким образом, во взрослой печени наряду со зрелыми ГЦ есть два вида стволовых клеток: эндогенные в желчных протоках и экзогенные из костного мозга. Не исключено, что в эмбриогенезе все эти клетки имеют единого предшественника.

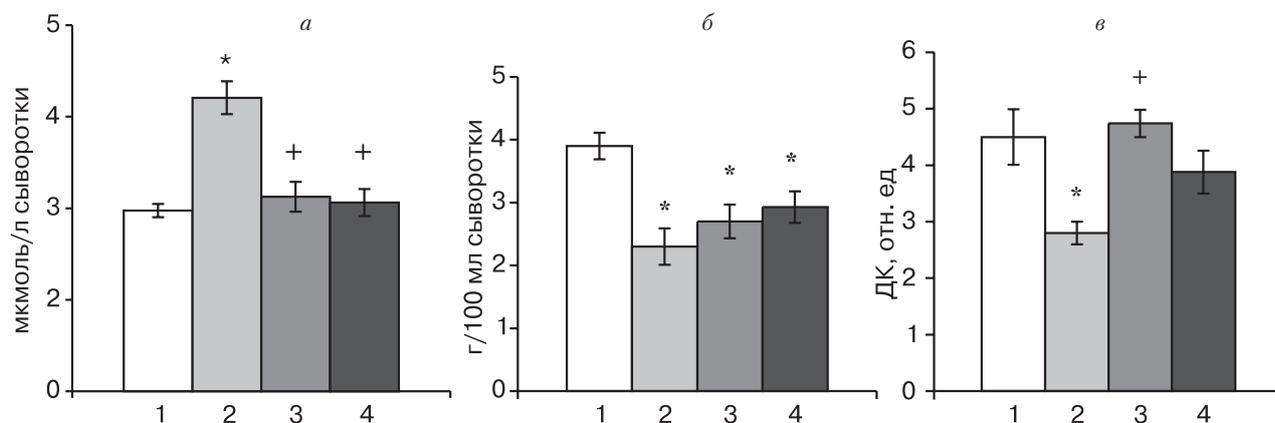


Рис. 2. Содержание билирубина (а), альбумина (б) в сыворотке крови и энергетическое состояние — дыхательный контроль (в) — митохондрий печени крыс при экспериментальном циррозе после введения клеток эмбриональной печени (КЭП) и бесклеточного экстракта тканей эмбрионов (ЭТЭ): 1 — норма; 2 — контроль; 3 — введение КЭП; 4 — введение ЭТЭ.

\*  $p < 0,05$  по сравнению с нормой;

+  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Рассмотрение претендентов на СКП будет неполным без упоминания об эмбриональных стволовых клетках (ЭСК), полученных из бластоцисты или полового бугорка и способных длительное время пролиферировать в недифференцированном состоянии в культуре на фидерном слое или в присутствии лейкемии ингибирующего фактора (LIF). Потенциально ЭСК в культуре или при трансплантации иммунодефицитным животным могут дифференцироваться во многие, если не во все, ткани организма. Выявление клеток печени после дифференциации ЭСК сопряжено с трудностью их морфологической идентификации среди других потомков в культуре. Тем не менее, показано, что при удалении LIF или фидера ЭСК спонтанно (без добавления ростовых факторов) начинают экспрессировать эндодермальные гены, такие как  $\alpha$ -фетопротеин, 1-антитрипсин, hepatocyte nuclear factor 3 beta, альбумин [33]. В присутствии ростовых факторов, критичных для средней (ростовой фактор ГЦ, HGF) и поздней (онкостатин М, дексаметазон, инсулин, трансферин) стадий гепатогенеза, экспрессируются такие дифференцировочные маркеры, как тирозинаминотрансфераза и глюкозо-6-фосфатаза, а также усиливается экспрессия альбумина [34]. Однако до настоящего времени не установлена программа полной дифференциации ЭСК до фенотипически зрелого и функционально активного ГЦ.

Анализ последних достижений в области изучения СКП схематически представлен на рис. 3. В соответствии с этой гипотетической схемой в раннем эмбриогенезе (первый триместр гестации) в печени одновременно присутствуют по крайней мере две истинные долгоживущие мультипотентные стволовые клетки: ЭндСК и СКК. При последующем развитии СКК мигрирует в костный мозг, а ЭндСК дает начало ОК и ГБ в печени, а также клеткам ПЖ и ЭНТ. В позднем эмбриогенезе ГБ дифференцируются в ГЦ или ХЦ, а ОК существуют во взрослой печени, выполняя функцию короткоживущей стволовой клетки, ответственной за физиологическое обновление. При остром дефиците паренхиматозной ткани, возникающем, например,

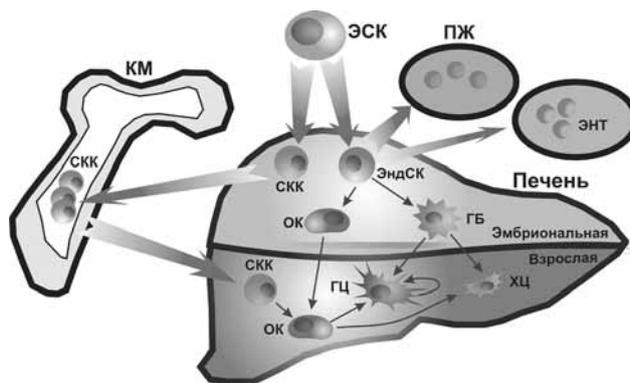


Рис.3. Гипотетическая схема стволовой системы печени: ЭСК – эмбриональная стволовая клетка; КМ – костный мозг; ПЖ – поджелудочная железа; СКК – стволовая кроветворная клетка; ЭНТ – энтероцит; ГБ – гепатобласт; ЭндСК – эндодермальная стволовая клетка; ОК – овальная клетка; ГЦ – гепатоцит; ХЦ – холангиоцит

после частичной гепатэктомии, ГЦ способны самообновляться и быстро восстанавливать массу органа. Роль долговременной стволовой клетки играет СКК, способная вторично мигрировать в печень из костного мозга и трансдифференцироваться в печеночные клетки. Описанная иерархия СКП является далеко не полной, поскольку не учитывает ряда переходных форм между различными стволовыми клетками.

На основании изложенного может быть выдвинута следующая гипотеза: клетки печени, полученные из эмбрионов первого триместра внутриутробного развития, при трансплантации способны восстанавливать функциональную недостаточность кроветворения, печени, поджелудочной железы и кишечника за счет пролиферации и дифференцировки долгоживущих стволовых клеток. Если эта гипотеза будет доказана на лабораторных животных с модельной патологией указанных органов и тканей, она может стать основой для разработки эффективных методов их лечения.

#### Литература

1. А.Ю. Петренко, В.И. Грищенко. Трансплантация стволовых клеток – перспективное направление терапии XXI века. // Междунар. мед. журн. – 2003. – Т. 9, № 1. – С. 123–129.
2. А.Ю. Петренко, В.И. Грищенко. Трансплантация стволовых клеток – терапия XXI века. 1. Характеристики и свойства стволовых клеток // Пробл. криобиол. – 2001. – № 2. – С. 3–12.
3. Полищук А.М. Особенности пролиферации гепатоцитов в растущей и регенерирующей печени // Усп. совр. биол. – 1983. – Т. 96, вып. 3(6). – С. 451–465.
4. Kay A.M., Fausto N. Liver regeneration: prospects for therapy based on new technologies // Mol. Med. Today. – 1997. – Vol. 3, № 3. – P. 108–115.
5. Tomiya T., Ogata I., Fujizawa K. Transforming growth factor  $\alpha$  levels in liver and blood correlate better than hepatocyte growth factor with hepatocyte proliferation during liver regeneration // Am. J. Pathol. – 1998. – Vol. 153, № 3. – P. 955–961.
6. Initiation of liver growth by tumor necrosis factor: deficient

- liver regeneration in mice lacking type 1 tumor necrosis factor receptor / Y. Yamada, I. Kirillova, J. Peschon et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – Vol. 94, № 4. – P. 1441–1446.
7. Webber E.M., Godowscy P.J., Fausto N. In vivo response of hepatocytes to growth factor requires an initial priming stimulus // Hepatol. – 1994. – Vol. 19. – P. 489–497.
8. Yamada Y., Fausto N. Deficient liver regeneration in mice lacking type 1 but not type 2 tumor necrosis factor receptor // Am. J. Pathol. – 1998. – Vol. 152. – P. 1577–1589.
9. Cressman P.E., Greenbaum L., DeAngelis R. Liver failure and defective hepatocyte regeneration interleukin-6 deficient mice // Science. – 1996. – Vol. 274. – P. 1379–1383.
10. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. – М.: Медицина, 1995. – 224 с.
11. Thorgeisson S. Hepatic stem cell in liver regeneration // FASEB J. – 1996. – Vol. 10. – P. 1249–1256.
12. Potten C.S., Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties // Development. – 1990. – V.110. – P. 1001–1020.

13. *Thorgeisson S.S.* Hepatic stem cells // *Am. J. Pathol.*— 1993.— Vol. 142.— P. 1331–1333.
14. *Farber E.* Similarities in the sequence of early histology changes induced in the liver of rats by ethionine, 2-acetilaminofluorine and 3-methyl-4-dimethylaminoazobenzene // *Cancer.*— 1956.— 16.— P. 142–148.
15. *Paku S., Schnur J., Nagy P.* Origin and structural evolution of the early proliferating oval cells in rat liver // *Am. J. of Pathol.*— 2001.— Vol. 158.— P. 1313–1323.
16. *Фактор В.М., Радаева С.А.* Стволовой резерв печени // *Онтогенез.*— 1991.— Т. 22, № 2.— С. 181–189.
17. *Sell S.* Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells // *Hepatology.*— 2001.— Vol. 33, № 3.— P. 738–750.
18. *Shafritz D.* Rat liver stem cells: prospects for the future // *Ibid.*— 2000.— Vol. 32, № 6.— P. 1399–1400.
19. *Thorgeisson S.S.* Hepatic stem cell in liver regeneration // *FASEB J.*— 1996.— Vol. 10.— P. 1249–1256.
20. Proliferation and differentiation of fetal liver epithelial progenitor cells after transplantation into adult rat liver / *M.A. Dabeva, P.M. Petkov, J. Sandhu et al.* // *Am. J. Pathol.*— 2000.— Vol. 156, № 6.— P. 2017–2031.
21. *Shiojiri N., Lemire J.M., Fausto N.* Cell lineages and oval cell progenitors in rat liver development // *Canc. Res.*— 1991.— V. 51.— P. 2611–2620.
22. *Zaret K.S.* Liver specification and early morphogenesis // *Mech. Dev.*— 2000.— V. 92.— P. 83–88.
23. Liver Repopulation and Correction of Metabolic Liver Disease by Transplanted Adult Mouse Pancreatic Cells / *X. Wang, M. Al-Dhalimy, E. Lagasse et al.* // *Am. J. of Pathol.*— 2001.— V. 158.— P. 571–579.
24. Clonal identification and characterization of self-renewing pluripotent stem cells in the developing liver / *A. Suzuki, Y. Zheng, S. Kaneko et al.* // *J. of Cell Biol.*— 2002.— Vol. 156, № 1.— P. 173–184.
25. *Strain A.J., Crosby H.N.* Hepatic stem cell // *Gut.*— 2000.— Vol. 46.— P. 743–745.
26. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells / *B. Petersen, W. Bowen, K. Patrene et al.* // *Science.*— 1999.— Vol. 284.— P. 1168–1170.
27. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells / *M. R. Alison, R. Poulsom, R. Jeffery et al.* // *Nature.*— 2000.— Vol. 406.— P. 257.
28. Liver from bone marrow in humans / *N. Theise, M. Nim-makalayu, R. Gardner et al.* // *Hepatology.*— 2000.— Vol. 32.— P. 11–16.
29. *Weissman I.L.* Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities // *Science.*— 2000.— Vol. 287.— P. 1442–1446.
30. Kinetics of liver repopulation after bone marrow transplantation / *X. Wang, E. Montini, M. Al-Dhalimy et al.* // *Am. J. Pathol.*— 2002.— Vol. 161.— P. 565–574.
31. *Оченашко О.В., Волкова Н.А., Петренко А.Ю.* Влияние криоконсервированных клеток эмбриональной печени на восстановительные процессы при экспериментальном циррозе печени // *Пробл. криобиол.*— 2002.— № 3.— С. 87–89.
32. Phenotypic analysis and colony-forming activity of cryopreserved human fetal liver hematopoietic cells / *A.I. Tarasov, A.Yu. Petrenko, D.R. Jones et al.* // *Exp. oncol.*— 2002.— Vol. 24(3)— P. 180–183.
33. *Takashi Hamazakia, Yasuhiko Iiboshib, Masahiro Okaa.* Hepatic maturation in differentiating embryonic stem cells in vitro // *FEBS letters.*— 2001.— Vol. 497.— P. 15–19.
34. Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells / *M. Schuldiner, O. Yanuka, J. Itskovitz-Eldor et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 2000.— Vol. 97.— P. 11307–11312.

Поступила 27.08.2003

TRANSPLANTATION OF STEM CELLS:  
A PROMISING DIRECTION OF THE XXI CENTURY THERAPY.  
3. LIVER STEM CELLS

A.Yu. Petrenko, V.I. Grischenko, O.V. Ochenashko, Yu.A. Petrenko

S u m m a r y

The hypothesis that stem cells of the liver, obtained from the first-trimester embryos are capable of restoring after transplantation functional insufficiency of hemopoiesis, liver, pancreas and intestine is presented.