

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 576.08+576.53

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.38-65

**РОЛЬ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПЕЧЕНИ АМФИБИЙ ВИДА
Rana terrestris В ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ В УСЛОВИЯХ
ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ НОРМЫ**

Е.И. Антонова¹, Д.И. Омарова², Н.В. Фирсова¹, К.А. Красникова¹

¹Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных проблем
биоэкологии и биотехнологии, Ульяновский государственный педагогический
университет имени И.Н. Ульянова, г. Ульяновск, 432071, Россия

²Омский государственный педагогический университет,
г. Омск, 644099, Россия

Аннотация

Центром метаболических реакций в организме животных является печень, которая также функционирует как «периферийный интегратор» энергетической потребности организма. Этот орган характеризуется высоким регенераторным потенциалом, который поддерживается за счет пролиферации гепатоцитов, а также гемопоэтических и региональных прогениторных клеток-предшественников печени (LPC). В связи с этим настоящее исследование посвящено изучению роли клеток-предшественников в регенерации печени амфибий вида *Rana terrestris* в условиях физиологической нормы в постэмбриогенезе. Анализ внутрипеченочных и гемопоэтических маркеров методами иммуногистохимии и проточной цитофлуориметрии показал, что на первый год постэмбриогенеза процессы регенерации печени в равной степени осуществляются за счет клеток-предшественников с иммунофенотипом СК19⁺ (внутрипеченочные клетки-предшественники), а также CD34⁺CD45⁺ (популяция гемопоэтических клеток-предшественников) и CD34⁺CD45⁻ (популяция гемангиобластов). На второй и третий год постэмбриогенеза основным источником регенерации печени являются СК19⁺-позитивные клетки и в меньшей мере гемопоэтические источники с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁻. Полученные данные во многом определяются средой обитания амфибий, терморегуляцией, а также завершением процессов морфогенеза на третий год постэмбриогенеза. Печень остается на изучаемые сроки постэмбриогенеза органом гемопоэза.

Ключевые слова: печень, стволовый потенциал, гемопоэтические клетки-предшественники, региональные прогениторные клетки-предшественники, регенерация, амфибии, постэмбриогенез, иммунофенотипирование, иммуногистохимия.

Введение

Печень – полифункциональный орган, центр метаболических реакций, который также действует как «периферийный интегратор» энергетической потребности организма, обеспечивает процессы детоксикации и поддержание гомеостаза организма в целом [1–7]. Он развивается как иммунокомпетентный орган кроветворения как в эмбриогенезе, так и в постэмбриогенезе у амфибий [8–11].

Филогенетические отношения среди семейств ныне живущих земноводных составляют основу анализа их происхождения и классификации. Современные исследования в основном сосредоточены на изучении биоразнообразия или эволюции. Исследованиям, в которых рассматривается филогенез печени позвоночных [12], уделяется недостаточное внимание, тогда как филогенетическое исследование печени земноводных может служить оптимальной моделью изучения онтогенеза органа позвоночных [13]. Актуальными являются такие аспекты анализа этого органа, как гистотопография с позиции взаимодействия гепатоцитарно-синусоидальных структур, что особенно интересно для отряда амфибий [13, 14], а также источников регенерации.

Печень является органом с высоким регенераторным потенциалом, причем в ряду земноводных отмечены уникальные механизмы восстановления по сравнению с другими позвоночными [5, 6, 15, 16]. Регенерация печени поддерживается за счет пролиферации гепатоцитов (первый режим регенерации) и клеток-предшественников печени – стволовых гемопоэтических и региональных прогениторных клеток – LPC (второй, альтернативный режим) [17–19]. В связи с этим актуально изучение источников происхождения, активации и роли LPC в процессах физиологической регенерации [5, 20, 21].

LPC называют по-разному – овальными клетками из-за большого отношения ядер к цитоплазме и овальной формы ядер, печеночными клетками-предшественниками, стволовыми клетками печени, протоковыми клетками, так как они располагаются в каналах Геринга [22–27]. Когда первичный режим регенерации работает неэффективно, активация второго режима регенерации запускает дедифференцировку клеток-предшественников в гепатоциты. Также известно, что в случаях, когда не реализуются оба режима регенерации, гепатоциты и холангиоциты функционируют как факультативные стволовые клетки и трансдифференцируются друг в друга для восстановления структуры печени. Так, в частности, отмечено, что СК19-позитивные клетки портальных зон мигрируют по соединительнотканым септам и дифференцируются в клетки двух линий: холангиоциты, формирующие междольковые желчные протоки, и гепатоциты [16, 28]. Происхождение LPC из билиарных эпителиальных клеток подтверждено в различных моделях повреждения печени [29, 30]. Показано, что билиарные эпителиальные клетки дедифференцируются в LPC, а LPC могут дифференцироваться в гепатоциты, популяция которых по окончании регенерации печени вновь дифференцируется в LPC. Данные механизмы, выявленные в печени человека, подтверждаются исследованиями на мышах и рыбах данио [31–34]. В некоторых исследованиях [35–37] рассмотрено предположение, что звездчатые клетки (клетки Ито) печени являются источником LPC и регенерированных гепатоцитов. Другие исследования по отслеживанию клонов не показали превращения звездчатых клеток печени в LPC или гепатоциты при множественных повреждениях печени, что повышает неопределенность в отношении звездчатых клеток печени как источника LPC [35–37].

Взаимодействия клеток-предшественников печени с микроокружением обеспечиваются паракринными механизмами. Несмотря на то, что в настоящее время ни одно антитело не может однозначно определять клетки-предшественники печени, предложены несколько маркеров. LPC экспрессируют как маркеры

гепатоцитов (CK8, CK18, альбумин, Ov6) [38], так и маркеры билиарных эпителиальных клеток (CK7, CK19, EpCAM и SOX9). В зависимости от условий повреждения LPC также экспрессируют гепатобластный маркер α -фетопротеин, гематопозитические маркеры (CD34, CD90, CD133, c-Kit, CXCR4 и Sca1 [39]), маркеры мезенхимальных стволовых/стромальных клеток (CD29, CD44, CD73, CD90, HLA-класса I и др. [40]), маркеры гемопоэтических/эндотелиальных клеток (CD11b, CD14, CD19, CD31, CD34, CD45, CD79 β , CD117, CD133, CD144 и HLA-DR [19]). Различная экспрессия этих маркеров в LPC отражает их гетерогенную природу [41–44].

В связи с этим цель настоящего исследования заключается в анализе топографического распределения клеток-предшественников печени с определением числа клеток с иммунофенотипом стволовых гемопоэтических и региональных прогениторных клеток-предшественников печени амфибий вида *Rana terrestris* как источников регенерации в постэмбриогенезе.

1. Материалы и методики исследования

1.1. Объекты исследования. Исследование проводили на 90 особях – самцах амфибий вида *Rana terrestris* первого (0+, сеголетки), второго (1+) и третьего года (2+) постэмбриогенеза, по 30 особей на каждый период постэмбриогенеза, в летний период. Амфибии выращивались в зоологическом музее Томского государственного университета. На каждый срок постэмбриогенеза проводили забор 30 образцов печени. Масса амфибий в эксперименте на первый год постэмбрионального развития составила 2.3 г, на второй год – 4.7 г, на третий год – 18.7 г. Возраст определяли по размерам тела: до 25 см – сеголетки (первый год), 2.7–5.0 см – двухлетки, 6.0–6.4 см – трехлетки.

1.2. Гистологические исследования. Для анализа гистотопографии образцы печени фиксировали в 10%-ном нейтральном буферном растворе формалина, изготавливали серийные срезы с окраской гематоксилин-эозин по стандартной методике [45].

1.3. Анализ внутрипеченочных и гемопоэтических маркеров проводили методами иммуногистохимии и проточной цитофлуориметрии. Для исследования экспрессии маркеров прогениторных клеток печени и стволовых гемопоэтических клеток использовали антитела к CK19 как маркеры овальных клеток (внутрипеченочные протоковые структуры в области канала Геринга) и CD34 и CD45 как маркеры гемопоэтических стволовых клеток/предшественников согласно оптимизированному в лаборатории протоколу.

1.3.1. Иммуногистохимическое исследование срезов печени. Антигены CD34 (Invitrogen, США) и CK19 (Abcam, Великобритания) при иммуногистохимическом анализе выявляли после предварительного демаскирования методом HIR (Heat-induced antigen retrieval). После депарафинирования и дегидратации гистологические срезы печени инкубировали с первичными, далее с биотинилированными вторичными антителами (Link, ПраймБиоМед LSAB+Kit Peroxidase), затем промывали и инкубировали со стрептавидином, конъюгированным с пероксидазой хрена (Streptavidin, ПраймБиоМед LSAB+Kit Peroxidase). В качестве субстрата пероксидазной реакции исполь-

зовали раствор аминоксилкарбазола и пероксида водорода. Морфологический анализ гистологических препаратов проводили с использованием светового микроскопа AxiomagerA1 (Carl Zeiss, Германия), а документацию и морфологическую обработку гистологических срезов – после оцифровки на сканирующем микроскопе Panoramic SCAN (3DHISTECH, Венгрия) с помощью программного обеспечения ZEN (Carl Zeiss, Германия) с использованием технологии полнослайдовых изображений.

1.3.2. Исследование маркеров методом проточной цитофлуориметрии.

Для исследования экспрессии маркеров использовали моноклональные антитела к CK19, CD34 и CD45 (Beckman Coulter, США). Иммунофенотипирование проводили на проточном цитофлуориметре (Partec CyFlow Space, Германия). Гистограммы анализировали с использованием программного обеспечения FloMax (Германия). В работе были использованы два источника излучения одновременно – синий лазер 488 нм и красный лазер 638 нм, а также 4 цвета (FL1–FL3 + FL4).

1.4. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программного обеспечения Prism 8.0.1 (Graphpad, США). Для установления нормальности распределения данных использовали метод Шапиро – Уилка, поскольку распределение данных является нормальным, то для статистической обработки данных были использованы параметрические методы. На начальном этапе анализа полученных количественных данных использовали методы описательной статистики. Для каждой выборки рассчитывали среднее значение (Mean) и среднеквадратичное отклонение (SD). Статистическую значимость различий значений оценивали по критериям параметрической статистики: для сравнения двух независимых групп применялся *t*-критерий Уэлча, для сравнения нескольких групп – ANOVA-тест Уэлча, для выявления степени сопряженности исследуемых показателей – корреляционный анализ Спирмена (*r*). При проверке статистических гипотез достоверными считались различия при критических уровнях значимости: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, **** – $p < 0.0001$.

2. Результаты и обсуждение

Эволюционные траектории морфогенетических процессов определяют формирование нового фенотипа органа относительно среды обитания [46]. При этом гистологические критерии широко используются в качестве биомаркеров [9, 46]. Эта категория биомаркеров позволяет исследовать конкретные органы-мишени, в том числе печень, отвечающие за жизненно важные функции и гомеостаз организма в целом в период эмбрионального развития, метаморфоза и постэмбриогенеза [1, 13], демонстрируя возможную гистологическую эволюционную тенденцию внутри подтипа позвоночных [48].

В ходе проведенных исследований отмечены гистотопографические особенности в организации печеночной ткани, которые оказывают влияние на функционирование печени амфибий вида *Rana terrestris* как организма с экотермной терморегуляцией, функционирующего в условиях пониженного парциального давления O_2 в крови, со сформированными в ходе эво-

люции адаптациями к быстрой реоксигенации, а также большим размером генома. Концентрация O_2 может быть ограничивающим фактором для клеток большого размера, таких, например, как гепатоциты у организмов с водной средой обитания по сравнению с организмами с наземной средой обитания [49]. Учитывая, что метаболическая активность является важным фактором успешности адаптации позвоночных к среде обитания, такая естественная физиологическая адаптация, когда гипоксическое состояние резко сменяется гипероксическим вследствие реоксигенации [50, 51], поддерживается за счет катаболизма липидов в качестве источников энергии. Низкая активность работы Na^+/K^+ -насосов у эктотермных животных определяет и более низкий уровень аэробного энергетического обмена, а также модификацию ферментов. В свою очередь, модификация ферментов аэробного энергетического обмена определяет снижение его кинетических свойств в ответ на гипоксию, тогда как степень метаболической депрессии определяется биологической зрелостью гепатоцитов [52].

Установлено, что от первого к третьему году постэмбриогенеза большая часть паренхимы представлена паренхимными (гепатоцитами) и непаренхимными клетками. Большая часть гепатоцитов не вступает в непосредственный контакт с сосудистым руслом, что ограничивает их доступ к поступлению кислорода, питательных веществ и, таким образом, влияет на метаболические показатели и функционирование органа в целом [4]. В свою очередь, низкая скорость метаболизма ослабляет селективное давление на метаболическую функцию органа без негативного влияния на адаптацию организма в целом. Это определило в ходе эволюции увеличение размера гепатоцитов за счет увеличения размера генома [46]. Так, известна положительная корреляция между размером генома и размером клетки в результате полиплоидизации [4, 53–56], что проявляется в развитии гипометаболизма, удлинении клеточного цикла, снижении скорости дифференцировки клеток. Учитывая, что размер генома коррелирует с уменьшением числа сосудистых структур, морфогенез обеспечивается за счет взаимодействий между меньшим количеством более крупных клеток [57].

Структурной и функциональной единицей печени амфибий вида *Rana terrestris* является ацинус (рис. 1–3), что согласуется с литературными данными [9, 48, 58]. Портальные тракты (перипортальная, афферентная зона) включают ветви воротной вены и печеночной артерии, желчные протоки и лимфатические сосуды, которые окружены соединительной тканью (глиассовая капсула). Отличительной особенностью является то, что печеночные артериолы и желчные протоки могут располагаться как в составе портального тракта – портально-трактовый тип, так и отдельно в паренхиме – изолированный тип (рис. 2, б). Эти отличия от гистотопографии млекопитающих объясняются особенностями метаболической активности, которые сформировались в ходе эволюции, носят адаптивный характер и являются примером избирательной специализации органа [46, 48]. Выделяют также область центральной вены (перивенулярная зона, эфферентная). В пределах центролобулярной, или промежуточной, зоны печеночного ацинуса отмечаются гемопоэтические узелки (рис. 2, б).

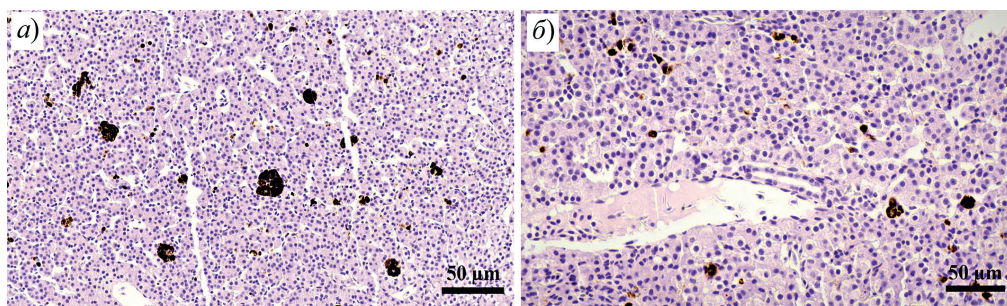


Рис. 1. Гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris*. Сеголетки. Окраска гематоксилин-эозин. Меланомacroфагальные центры (а), меланомacroфагальные центры в области портального тракта (б). Увеличение 200×

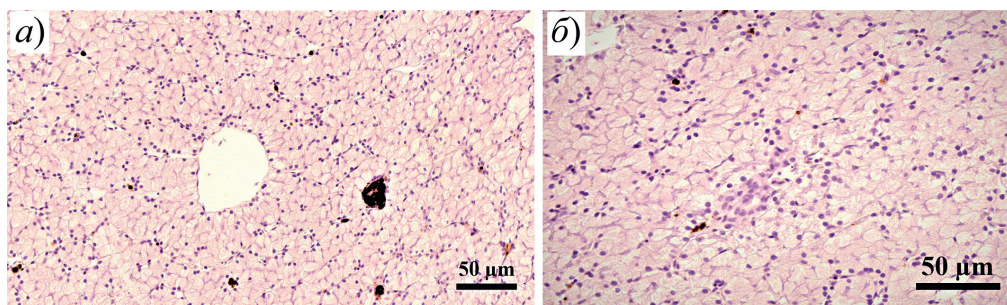


Рис. 2. Гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris*. Двухлетки. Окраска гематоксилин-эозин. Меланомacroфагальные центры в области центральной вены (а), изолированный желчный проток с гемопоэтическими клетками (б). Увеличение 200×

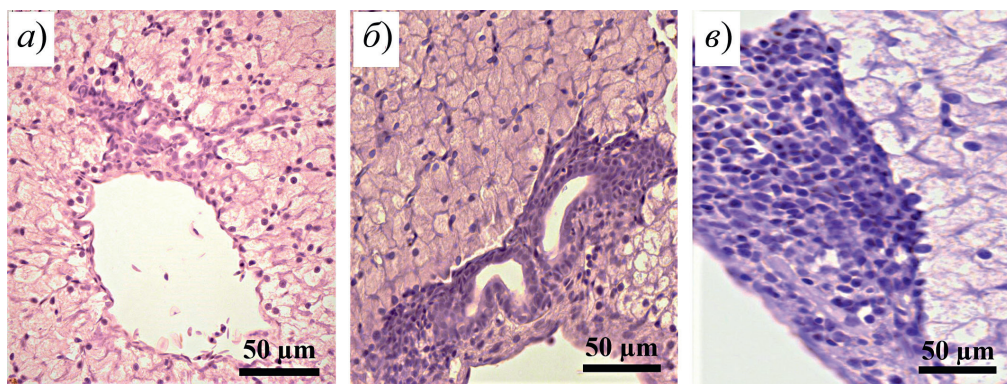


Рис. 3. Гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris*. Двухлетки. Окраска гематоксилин-эозин. Область портального тракта с гемопоэтическими клетками, (а и б), субкапсулярная зона с гемопоэтическими клетками (в). Увеличение 200×

Как видно из рис. 1–4, гепатоциты имеют неправильную форму, пяти- или шестигранную, с расширенной базальной частью и суженной апикальной, что делает их похожими на усеченные пирамиды. Ядра гепатоцитов с одним или двумя ядрышками, цитоплазма с признаками жировой вакуолизации. Большое количество липидов рассматривается как альтернативный источник глюконеогенеза, а также является адаптивной структурной модификацией, которая в ходе эволюции позволила расширить адаптивную зону амфибий в связи с переходом

с водной к наземной среде обитания [48, 59]. К третьему году цитоплазма гепатоцитов становится обильно зернистой (рис. 4).

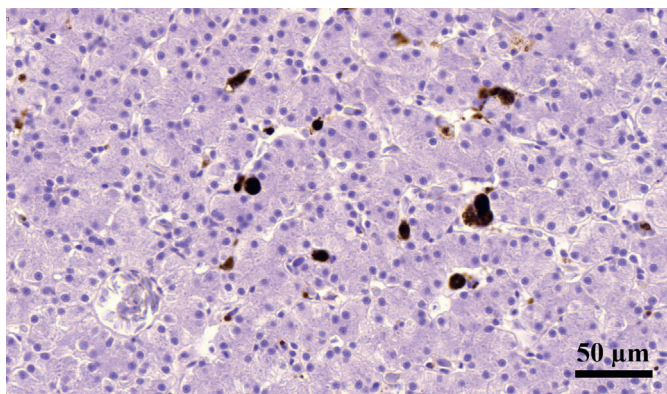


Рис. 4. Гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris*. Трехлетки. Окраска гематоксилин-эозин. Меланомacroфагальные центры и полнокровная центральная вена с эритроцитами. Увеличение 200×

На первый год постэмбриогенеза (рис. 1) паренхима печени амфибий вида *Rana terrestris* в большей части организована гепатоцитами в виде трубчатых структур. На второй год наряду с трубчатыми отмечаются короткие структуры в два ряда гепатоцитов и трабекулы. На третий год наблюдается гистотопография паренхимы печени комбинированного типа (рис. 4). Просвет синусоидных капилляров (емкостное звено) формирует различного рода петли (вазо- и цитозональные [13]), либо наблюдаются узкие и короткие извитые капилляры. В просвете отдельных синусоидных капилляров, а также в области сосудов порталных трактов отмечаются многочисленные гемопоэтические клетки, что также соответствует литературным данным [13]. В просвете сосудов венозного звена отмечаются эритроциты в умеренном количестве (рис. 4). Таким образом, полученная нами гистотопография печени амфибий вида *Rana terrestris* близка к организации паренхимы печени млекопитающих [13, 52, 60] и отличается от таковой для рыб [13, 52, 60]. Трабекулярное расположение гепатоцитов толщиной от одной до двух клеток (рис. 1, 2, 4) увеличивает площадь поверхности каждого гепатоцита, находящегося в контакте с циркулирующей кровью [46].

В ходе проведенных исследований амфибий вида *Rana terrestris* выявлены особенности взаимосвязи гистотопографии печени и кроветворной ткани. Так, в первый год постэмбриогенеза в печени отмечено скопление гемопоэтических клеток в области порталных трактов и в субкапсулярной области, а также гемопоэтических узелков во второй зоне ацинуса (рис. 3), что соответствует данным других исследований [13]. Таким образом, эти области можно охарактеризовать как ниши/«почки» остаточного гемопоэза, в которых локализованы гистиоцитарная и эритробластная популяции клеток крови, а также присутствуют лимфоцитарные и гранулоцитарные предшественники. Несмотря на то, что в постэмбриогенезе основным органом кроветворения является красный костный мозг, выявленная нами остаточная активность гемопоэза с первого по третий год постэмбриогенеза [6] носит

адаптивный характер. И если у млекопитающих кроветворение происходит в красном костном мозге и лимфоидных органах, а коммитированные миелоидные предшественники далее дифференцируются в клетки с мегакариоцитарно-эритроидным или гранулоцитарно-макрофагальным потенциалом, то у амфибий периферическая часть печени (субкапсулярная) функционирует как основное место кроветворения и содержит мегакариоцитарно-эритроидный росток, а клетки гранулоцитарно-макрофагального ростка локализованы в костном мозге [8–10, 61].

Синусоидные капилляры выстланы эндотелиальными клетками и клетками Купфера. Эндотелиальные клетки печени обеспечивают регуляцию венозного и артериального кровотока. С током крови в печень поступают сигнальные молекулы, которые также обеспечивают реализацию процессов физиологической регенерации [62]. Как видно из рис. 1–4, на всех сроках постэмбриогенеза отмечается большое количество клеток Купфера в виде популяций как одиночно лежащих меланомacroфагов, так и меланомacroфагов, собранных в меланомacroфагальные центры. Меланомacroфаги и связанные с ними клетки Купфера, которые содержат меланин, липофусцин и гемосидерин, действуют как фагоциты, а также обеспечивают распознавание антигена, определяя течение иммунных реакций в печени, связанных как с врожденными, так и со специфическими адаптивными иммунными механизмами [6, 63–65]. Большое количество меланомacroфагов, по-видимому, связано также с первичным меланогенезом [60] и утилизацией разрушенных эритроцитов [66]. Меланин способен поглощать и нейтрализовывать свободные радикалы и другие ксенобиотики [65]. Отмеченное большое количество меланомacroфагов поддерживается пролиферацией клеток Купфера, которая, в свою очередь, сопряжена с CD11b⁺-моноцитами крови. Кроме того, клетки Купфера паракринно посредством продукции IL-6, фактора некроза опухоли и трансформирующих факторов роста бета-1 и альфа обеспечивают регенерацию печени. При этом терминальная дифференцировка клеток обеспечивается сигналами от звездчатых клеток печени, гепатоцитов и эндотелиальных клеток [67].

Органогенез, в отличие от регенерации, реализуется в период эмбрионального развития посредством сложных процессов, включающих формирование зачатка органа, который возникает из стволовых клеток, и последующий морфогенез, определяющий уникальную морфологию и функции органа [68]. В свою очередь, морфогенез в онтогенезе обусловлен рядом скоординированных биохимических и морфогенетических процессов, в том числе регулируемой клеточной пролиферацией, миграцией клеток и цитодифференцировкой. Цитокоммуникации клеток органа обеспечивают передачу позиционной и детерминированной информации друг другу, обеспечивая индукцию образования тканей и органогенез [69].

Уникальная регенеративная способность печени обеспечивает поддержание гомеостаза организма в ряду от рыб до млекопитающих [70]. Печень является единственным органом, который использует регенеративные механизмы для обеспечения гепатостата, т. е. поддержания размера печени на уровне 100% от того, который необходим для гомеостаза [62]. Регенерация печени млекопитающих реализуется по пути компенсаторной гипертрофии, при которой объем органа увеличивается за счет гипертрофии и гиперплазии [71, 72]. Клеточные и мо-

лекулярные механизмы, лежащие в основе компенсаторной гипертрофии, также отмечаются в процессах регенерации печени у амфибий, которая представляет собой сложный процесс с участием эндотелиальных клеток, стволовых гемопоэтических клеток, внутрипеченочных клеток-предшественников и регулируется сетью цитокинов, включая фактор роста гепатоцитов, эпидермальный фактор роста, фактор некроза опухоли, фактор роста эндотелия сосудов, Wnt/ β -катенин и трансформирующий фактор роста бета-1 [62].

Исследование экспрессии маркеров стволовых гемопоэтических и региональных клетокпредшественников с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁺, CD34⁺CD45⁻ и СК19⁺ методом проточной цитофлуориметрии представлено на рис. 5.

Проведенные исследования по определению роли стволового потенциала в физиологической регенерации печени амфибий вида *Rana terrestris* на первый, второй и третий год постэмбриогенеза методом проточной цитофлуориметрии выявили особенности в соотношении и роли гемопоэтических и внутрипеченочных стволовых клеток (табл. 1).

Табл. 1

Динамика показателей маркеров стволовых гемопоэтических и региональных клетокпредшественников на первый, второй и третий год постэмбриогенеза амфибий вида *Rana terrestris*

Маркеры	Число клеток в 1 мл		
	Сеголетки	Двухлетки	Трехлетки
CD34 ⁺ CD45 ⁺	4283 ± 2156	3092 ± 1553 $p_1 = 0.053$	1500 ± 279 $p_2 = 0.0002^{**}, p_3 < 0.0001^{***}$
CD34 ⁺ CD45 ⁻	5506 ± 1374	5871 ± 3483 $p_1 = 0.67$	4954 ± 1785 $p_2 = 0.30, p_3 = 0.28$
СК19 ⁺	5536 ± 1568	6836 ± 2860 $p_1 = 0.09$	9780 ± 3393 $p_2 = 0.005^*, p_3 < 0.0001^{***}$

Примечание: p_1 – уровень статистической значимости различий между первым и вторым годом; p_2 – между вторым и третьим годом; p_3 – между первым и третьим годом. * – $p < 0.01$, ** – $p < 0.001$, *** – $p < 0.0001$.

С помощью параметрического ANOVA-теста Уэлча (W) проведено сравнение средних значений в каждой исследуемой группе относительно анализируемых маркеров. Выявлено (табл. 1), что количество CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток статистически значимо отличается на анализируемых сроках постэмбриогенеза ($W = 25.36, p < 0.0001$). Сравнительный анализ динамики данного показателя выявил стойкое снижение от первого к третьему периоду постэмбриогенеза. Так, в частности, уменьшение числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток от первого года к третьему составляет 65% (2783 ± 486 клеток/мл, $p < 0.0001$), на второй год – на 28% (1191 ± 594 клеток/мл, $p = 0.06$) по сравнению с первым годом и на третий год – на 51% (1592 ± 353 клеток/мл, $p = 0.002$) по сравнению со вторым годом.

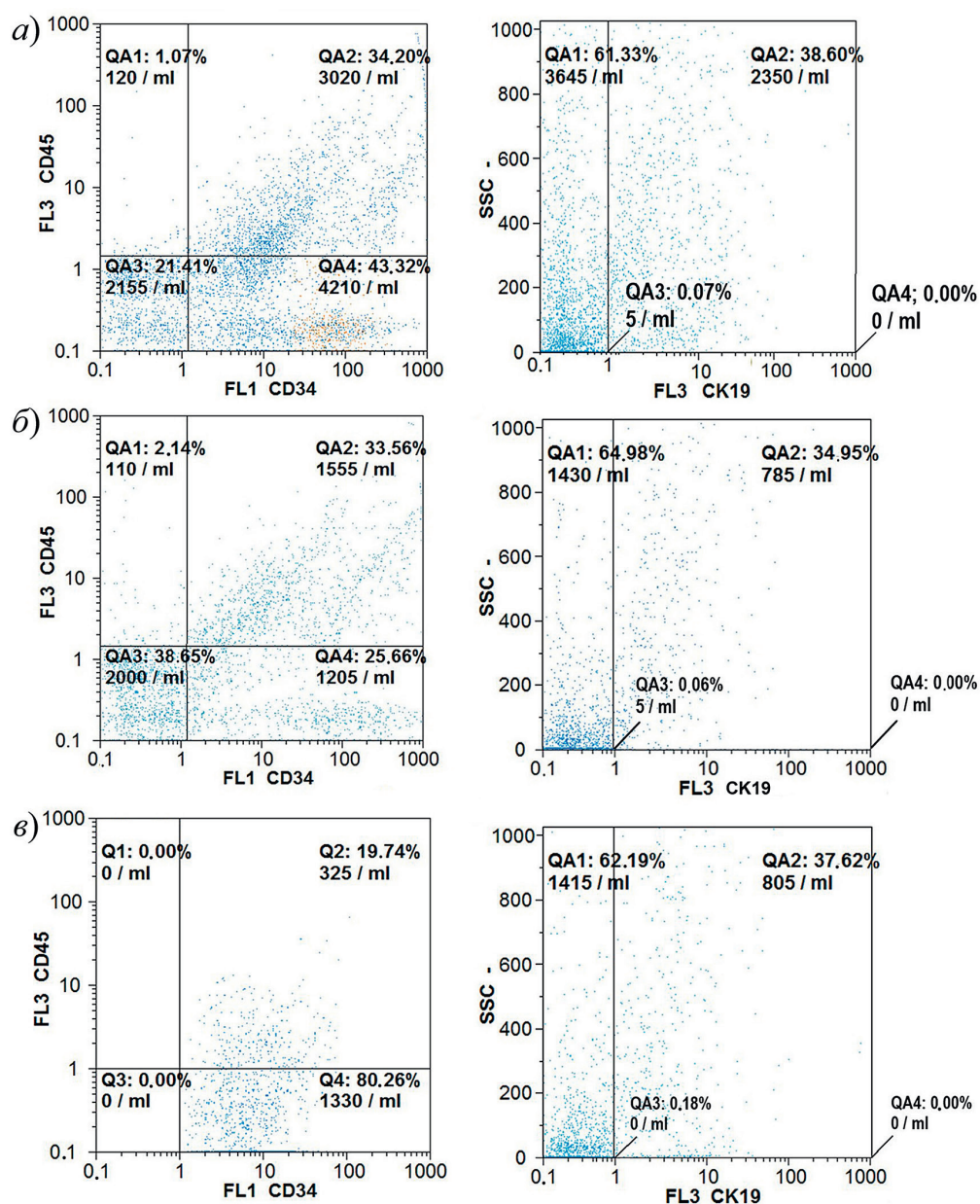


Рис. 5. Динамика числа клеток-маркеров стволовых гемопоэтических и региональных клеткопредшественников с иммунофенотипом $CD34^+CD45^+$, $CD34^+CD45^-$ и $CK19^+$ на первый (а), второй (б) и третий (в) год постэмбриогенеза в печени амфибий вида *Rana terrestris* по данным проточной цитофлуориметрии

Различия в количестве $CD34^+CD45^-$ -позитивных клеток для рассматриваемых сроков постэмбриогенеза не достигают статистически значимого уровня ($W = 0.83$, $p = 0.44$). С первого по третий год постэмбриогенеза количество $CD34^+CD45^-$ -клеток снижается на 10% ($p = 0.28$). На второй год количество $CD34^+CD45^-$ -клеток увеличивается на 7% ($p = 0.67$) по сравнению с первым годом, а к третьему году снижается на 16% по сравнению со вторым годом ($p = 0.30$).

Количество СК19⁺-клеток статистически значимо отличается на анализируемых сроках постэмбриогенеза ($W = 12.93$, $p < 0.0001$). Сравнительный анализ динамики данного показателя выявил стойкое увеличение от первого к третьему периоду постэмбриогенеза. Так, в частности, увеличение числа СК19⁺-позитивных клеток от первого к третьему году постэмбриогенеза составляет 77% (4243 ± 836 клеток/мл, $p < 0.0001$), на второй год – на 23% (1300 ± 729 клеток/мл, $p = 0.09$) по сравнению с первым годом и на третий год – на 43% (2944 ± 992 клеток/мл, $p = 0.005$) по сравнению со вторым годом.

Количество СК19⁺-позитивных клеток в печени сеголеток (рис. 5, а) амфибий вида *Rana terrestris* на 23% больше, чем число CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток (1254 ± 596 клеток/мл, $p = 0.04$) и примерно равно количеству CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток ($p = 0.95$). Количество CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток на 22% меньше, чем число CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток (1224 ± 572 клеток/мл, $p = 0.04$). Соотношение CD34⁺CD45⁺-, CD34⁺CD45⁻- и СК19⁺-позитивных клеток в печени сеголеток составляет 0.8 : 1 : 1 соответственно.

Количество СК19⁺-позитивных клеток в печени амфибий вида *Rana terrestris* на второй год постэмбриогенеза (рис. 5, б) на 55% больше числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток (3744 ± 728 клеток/мл, $p < 0.0001$) и примерно равно количеству CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток ($p = 0.34$). Количество CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток меньше числа CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток на 47% (2779 ± 853 клеток/мл, $p = 0.003$). Соотношение CD34⁺CD45⁺-, CD34⁺CD45⁻- и СК19⁺-позитивных клеток на второй год постэмбриогенеза составляет 0.5 : 0.9 : 1 соответственно. Таким образом, на второй год постэмбриогенеза сохраняется общая тенденция увеличения количества СК19⁺-позитивных клеток относительно числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток и примерно одинаковое количество СК19⁺- и CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток. Увеличение доли СК19⁺-позитивных клеток отмечается на фоне снижения доли CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток в сравнении с первым годом постэмбриогенеза.

На третий год постэмбриогенеза (рис. 5, в) по данным проточной цитофлуориметрии количество СК19⁺-позитивных клеток на 85% больше количества CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток (8280 ± 761 клеток/мл, $p < 0.0001$) и на 49% – CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток (4825 ± 857 клеток/мл, $p < 0.0001$). В свою очередь, число CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток на 70% меньше числа CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток (3454 ± 404 клеток/мл, $p < 0.0001$). Соотношение CD34⁺CD45⁺-, CD34⁺CD45⁻- и СК19⁺-позитивных клеток составляет 0.2 : 0.5 : 1 соответственно. Таким образом, на третий год постэмбриогенеза сохраняется общая тенденция увеличения количества СК19⁺-позитивных клеток по сравнению с количеством CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток, которая выявлена на первый и второй год постэмбриогенеза. Однако отличительной особенностью является резкое снижение числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток с выраженным увеличением числа СК19⁺-позитивных клеток.

Корреляционный анализ исследуемых маркеров в разные периоды постэмбриогенеза (рис. 6) выявил, что количество гемопоэтических стволовых клеток с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁺ проявляет положительную сопряженность с количеством гемопоэтических стволовых клеток с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁻ ($r = 0.653$, $p = 0.002$) на второй год постэмбриогенеза, а также с количеством

прогениторных клеток-предшественников печени с иммунофенотипом $CK19^+$ ($r = 0.563$, $p = 0.010$) на третий год. Кроме того, количество клеток с иммунофенотипом $CK19^+$ положительно сопряжено с количеством клеток с иммунофенотипом $CD34^+CD45^-$ ($r = 0.652$, $p = 0.002$) на второй год постэмбриогенеза.

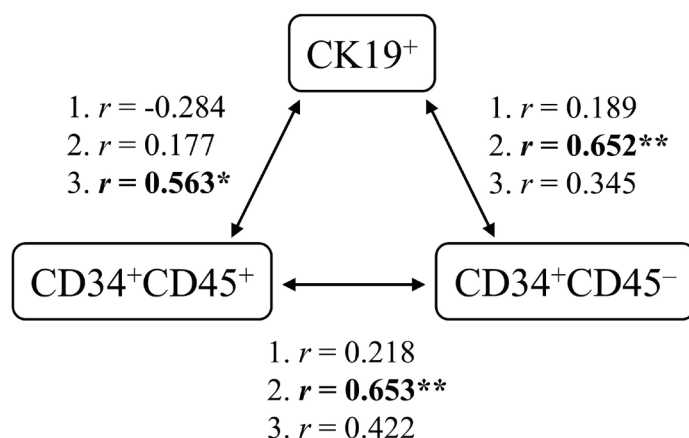


Рис. 6. Корреляция между $CD34^+CD45^+$, $CD34^+CD45^-$ и $CK19^+$ в разные периоды постэмбриогенеза в печени амфибий вида *Rana terrestris*. r – коэффициент ранговой корреляции. Статистически значимыми считались данные при $*p < 0.05$ и $**p < 0.01$

Определенные зоны локализации $CD34$ -позитивных и $CK19$ -позитивных клеток иммуногистохимически не выявлены. Данные популяции клеток отмечаются в области портального тракта, в области гемопоэтических островков, по ходу синусоидных капилляров в области субкапсулярной зоны (рис. 7). Последние исследования демонстрируют, что все гепатоциты во всех зонах ацинуса участвуют в медленной пролиферации гепатоцитов, которая связана с поддержанием массы печени в условиях физиологической нормы. Избирательная регенеративная пролиферация, исходящая из перипортальных областей, отсутствует. Таким образом, можно говорить о «демократической» роли равного участия всех гепатоцитов в поддержании физиологического состояния органа и в процессах физиологической регенерации. Когда гепатоциты вступают в хроническую компенсаторную пролиферацию, типично полиплоидные гепатоциты постепенно возвращаются в основном к диплоидному статусу [60].

Гемопоэтические стволовые клетки и стволовые/прогениторные клетки играют ключевую роль в развитии печени [5, 40, 44, 73]. Выявленное в ходе исследований стойкое снижение числа $CD34^+CD45^+$ -позитивных гемопоэтических стволовых клеток от первого к третьему году постэмбриогенеза на фоне обратной тенденции увеличения числа $CK19^+$ -позитивных клеток как внутрипеченочных предшественников гепатоцитов отражает роль стволового потенциала в механизмах клеточной регенерации печени в постэмбриональном развитии.

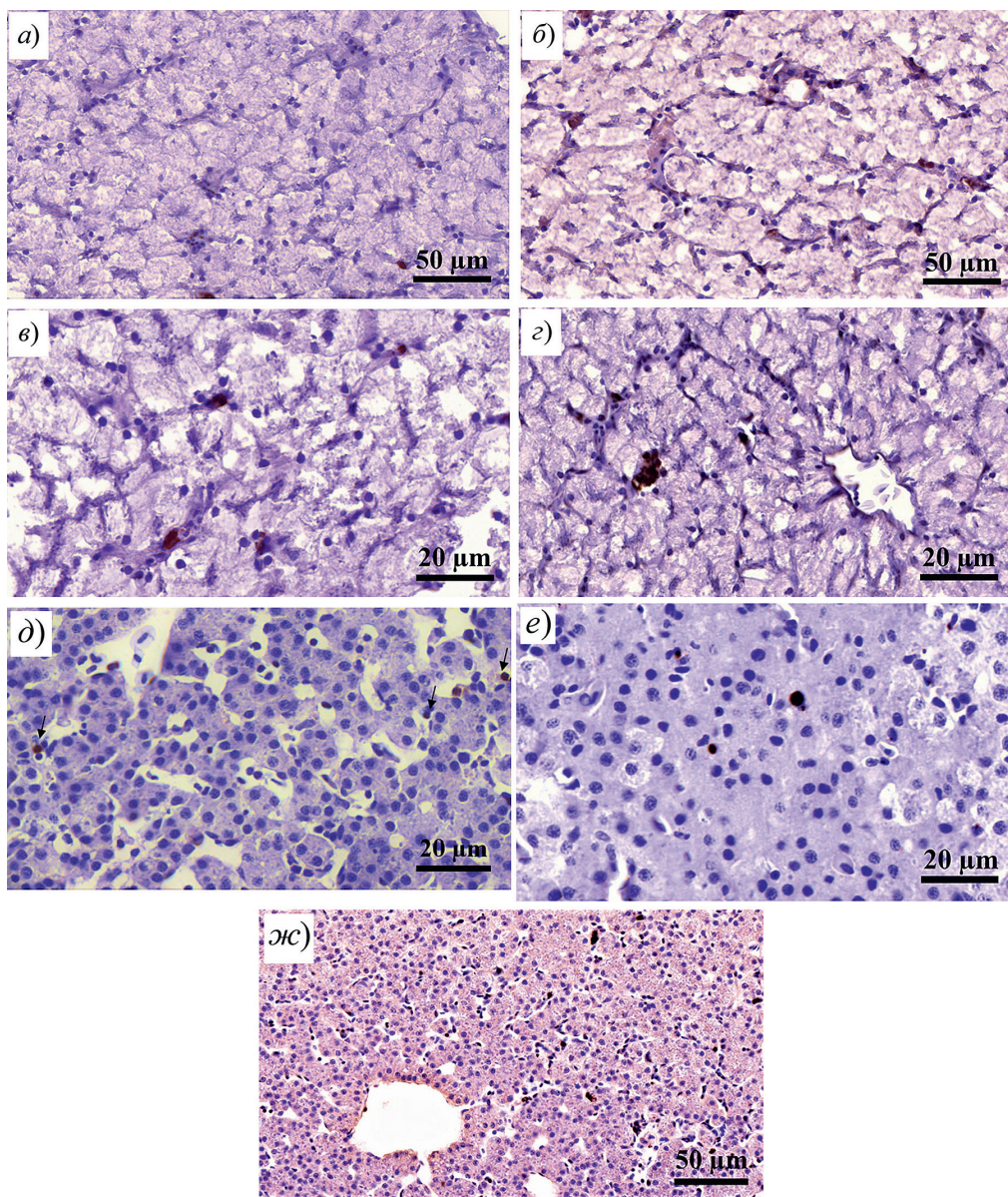


Рис. 7. Печень амфибий вида *Rana terrestris*. Окраска CD34⁺-клетки: а–г – сеголетки (области гемопоэтических островков (а–в) и центральной вены (г)); д – двухлетки; е – трехлетки, увеличение 200×; ж – трехлетки, окраска CK19⁺-клетки в области центральной вены, увеличение 100×

Известно, что СК19 является маркером овальных клеток (LPC, putative hepatic stem cells, региональные прогениторные клетки). LPC экспрессируют факторы транскрипции гепатоцитов и холангиоцитов [16, 28, 40, 44, 74, 75], т. е. функционируют как бипотенциальные клетки-предшественники [16, 43, 76, 77]. LPC являются остатками эмбриональной протоковой пластинки и считаются «гибридными» клетками [78, 79]. Существуют убедительные доказательства происхождения клеток-предшественников из билиарных эпителиальных клеток [5, 30, 32, 80, 81], которые разрастаются из портальных триад и постепенно

трансформируются в малые и зрелые гепатоциты [25, 82, 83]. Исследования показали, что описанные выше механизмы второго режима регенерации печени, которые запускаются у млекопитающих в условиях повреждения печени, у амфибий вида *Rana terrestris* протекают в условиях физиологической регенерации. По литературным данным локализация СК19-клеток в основном отмечается в области портального тракта и связана с экспрессией трансформирующего фактора роста бета-1 [67]. В более позднем исследовании [84] физиологическая регенерация гепатоцитов обнаружена рядом с центральной веной, где сигналы Wnt от эндотелиальных клеток центральной вены обеспечивают преимущество пролиферации соседних гепатоцитов. В нашем исследовании СК19⁺-позитивные клетки рассредоточены в пределах всех зон ацинуса.

Участие билиарных клеток в альтернативных путях регенерации во многом определяется Yes-ассоциированным белком 1 и его взаимодействием с желчными кислотами [85, 86]. «Почки» клеток-предшественников, происходящих из холангиоцитов, служат сайтами для дальнейшей продукции гепатоцитов [87, 88]. При этом СК19⁺-позитивные клетки отрицательны в отношении гематопоэтических маркеров CD34 и CD45 [19, 89]. Выявленное нами увеличение числа СК19⁺-позитивных клеток отражает формирование в постэмбриогенезе пула внутрипеченочных предшественников как источника процессов трансдифференцировки «протоковых гепатоцитов».

В печени сеголеток амфибий вида *Rana terrestris* отмечено примерно равное соотношение числа позитивных клеток с иммунофенотипом СК19⁺, CD34⁺CD45⁺ и CD34⁺CD45⁻. На второй и третий год постэмбриогенеза отмечено значительное снижение числа CD34⁺CD45⁺-позитивных клеток, тогда как число CD34⁺CD45⁻-позитивных клеток остается на уровне первого года постэмбриогенеза (несмотря на отсутствие значимых показателей). Данная динамика отражает большую роль гемопоэтических стволовых клеток, которую они играют в механизмах физиологической регенерации печени амфибий вида *Rana terrestris*. Известно, что клеточная популяция с иммунофенотипом CD34⁺CD45⁻ относится к популяции гемангиобластов, а CD34⁺CD45⁺ – к популяции гемопоэтических клеток-предшественников. Антиген CD34 экспрессируется практически всеми гемопоэтическими клетками-предшественниками, в том числе мультипотентными стволовыми клетками, тогда как антиген CD45 экспрессируется всеми типами гемопоэтических клеток, за исключением зрелых эритроцитов и их непосредственных предшественников [28, 42–44]. Эти антитела не обнаруживаются в дифференцированных негемопоэтических тканях. Следовательно, выявленные в паренхиме печени гемопоэтические зоны (островки в паренхиме, в области портального тракта и в области субкапсулярной зоны) являются зонами гемопоэза в исследуемые периоды постэмбриогенеза, что согласуется с литературными данными [8–10, 61]. В свою очередь CD34-позитивные клетки могут быть источником билиарного эпителия, а выявленная нами «демократическая» локализация стволовых клеток по всем зонам ацинуса подразумевает, что они повсеместно присутствуют в печени [90].

Таким образом, роль стволового потенциала в реализации физиологической регенерации печени амфибий вида *Rana terrestris* на первый год постэмбриогенеза проявляется в равномерном участии как региональных прогениторных клеток-предшественников печени с иммунофенотипом СК19⁺, так и гемопо-

этических стволовых клеток-предшественников гепатоцитов $CD34^+CD45^+$ и $CD34^+CD45^-$. На второй год отмечено уменьшение доли гемопоэтических стволовых клеток-предшественников гепатоцитов с иммунофенотипом $CD34^+CD45^+$ на фоне увеличения числа клеток с иммунофенотипом $СК19^+$. На третий год основным источником поддержания гепатостата печени со стороны клеток-предшественников являются $СК19^+$ клетки, т. е. региональные предшественники, и в меньшей мере гемопоэтические стволовые клетки – гемангиобласты с иммунофенотипом $CD34^+CD45^-$. Полученные данные во многом определяются средой обитания амфибий, терморегуляцией, завершением процессов морфогенеза, фактом того, что печень остается на изучаемые сроки постэмбриогенеза органом гемопоэза, а также большим размером генома амфибий.

Закключение Комитета по этике. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 2000 г. «О гуманном отношении к животным», Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123) и Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС о защите животных, использующихся для научных целей.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Gernhöfer M., Pawert M., Schramm M., Müller E., Triebkorn R. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams // J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery. 2001. V. 8, No 3–4. P. 241–260. <https://doi.org/10.1023/A:1012958804442>.
2. Young B., Woodford P., O'Dowd G. Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas. 6th ed. London: Churchill Livingstone, 2013. 464 p.
3. Akulenko N.M., Dziubenko N.V., Marushchak O.Yu., Nekrasova O.D., Oskyrko O.S. Histological changes in common toad, *Bufo bufo* (Anura, Bufonidae), liver tissue under conditions of anthropogenically transformed ecosystems // Vestn. Zool. 2019. V. 53, No 6. P. 501–506. <https://doi.org/10.2478/vzoo-2019-0045>.
4. Gardner J.D., Laurin M., Organ C.L. The relationship between genome size and metabolic rate in extant vertebrates // Phil. Trans. R. Soc., B. 2020. V. 375, No 1793. Art. 20190146. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0146>.
5. So J., Kim A., Lee S.-H., Shin D. Liver progenitor cell-driven liver regeneration // Exp. Mol. Med. 2020. V. 52, No 8. P. 1230–1238. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0483-0>.
6. Leão T., Siqueira M., Marcondes S., Franco-Belussi L., De Oliveira C., Fernandes C.E. Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index in five Neotropical anuran species // Anat. Rec. 2021. V. 304, No 4. P. 860–871. <https://doi.org/10.1002/ar.24540>.
7. Dagli M.L.Z., Chaible L.M., Steiger K. Liver and pancreas: Ch. 15 // Sundberg J.P., Vogel P., Ward J.M. (Eds.). Pathology of Genetically Engineered and Other Mutant Mice. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2021. P. 307–335. <https://doi.org/10.1002/9781119624608.ch15>.
8. Moore M.A.S. Commentary: The role of cell migration in the ontogeny of the lymphoid system // Stem Cells Dev. 2004. V. 13, No 1. P. 1–21. <https://doi.org/10.1089/154732804773099218>.
9. Sayed A.E.-D.H., Elballouz A.I., Wassif E.T. Histological and histochemical studies on the early developmental stages of the Egyptian toad *Bufo regularis* Reuss // Open J. Anim. Sci. 2015. V. 5, No 2. P. 142–156. <https://doi.org/10.4236/ojas.2015.52017>.

10. Yaparla A., Reeves P., Grayfer L. Myelopoiesis of the amphibian *Xenopus laevis* is segregated to the bone marrow, away from their hematopoietic peripheral liver // *Front. Immunol.* 2020. V. 10. Art. 3015. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03015>.
11. Nagy P., Thorgerirsson S.S., Grisham J.W. Organizational principles of the liver: Ch. 1. // Arias I.M., Alter H.J., Boyer J.L., Cohen D.E., Shafritz D.A., Thorgerirsson S.S., Wolkoff A.W. (Eds.). *The Liver: Biology and Pathobiology*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2020. P. 1–13. <https://doi.org/10.1002/9781119436812.ch1>.
12. Saito M., Kitamura H., Sugiyama K. Liver gangliosides of various animals ranging from fish to mammalian species // *Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol.* 2001. V. 129, No 4. P. 747–758. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00379-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00379-7).
13. Akiyoshi H., Inoue A.M. Comparative histological study of hepatic architecture in the three orders amphibian livers // *Comp. Hepatol.* 2012. V. 11, No 1. Art. 2. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-11-2>.
14. Akiyoshi H., Inoue A.M. Comparative histological study of teleost livers in relation to phylogeny // *Zool. Sci.* 2004. V. 21, No 8. P. 841–850. <https://doi.org/10.2108/zsj.21.841>.
15. Ohashi A., Saito N., Kashimoto R., Furukawa S., Yamamoto S., Satoh A. Axolotl liver regeneration is accomplished via compensatory congestion mechanisms regulated by ERK signaling after partial hepatectomy // *Dev. Dyn.* 2021. V. 250, No 6. P. 838–851. <https://doi.org/10.1002/dvdy.262>.
16. Лебедева Е.И. Роль СК19-позитивных клеток портальных зон при тиаоацетамид-индуцированном циррозе печени крыс // *Цитология.* 2021. Т. 63, № 4. С. 379–389. <https://doi.org/10.31857/S0041377121040052>.
17. Wang B., Zhao L., Fish M., Logan C.Y., Nusse R. Self-renewing diploid Axin2⁺ cells fuel homeostatic renewal of the liver // *Nature.* 2015. V. 524, No 7564. P. 180–185. <https://doi.org/10.1038/nature14863>.
18. Lopez-Luque J., Fabregat I. Revisiting the liver: From development to regeneration – what we ought to know! // *Int. J. Dev. Biol.* 2018. V. 62, No 6–7–8. P. 441–451. <https://doi.org/10.1387/ijdb.170264JL>.
19. Bruno S., Sanchez M.B.H., Chiabotto G., Fonsato V., Navarro-Tableros V., Pasquino C., Tapparo M., Camussi G. Human liver stem cells: A liver-derived mesenchymal stromal cell-like population with pro-regenerative properties // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 9. Art. 644088. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.644088>.
20. Miyajima A., Tanaka M., Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming // *Cell Stem Cell.* 2014. V. 14, No 5. P. 561–574. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.04.010>.
21. Duncan A.W., Dorrell C., Grompe M. Stem cells and liver regeneration // *Gastroenterology.* 2009. V. 137, No 2. P. 466–481. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.044>.
22. Stanger B.Z. Cellular homeostasis and repair in the mammalian liver // *Annu. Rev. Physiol.* 2015. V. 77. P. 179–200. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170255>.
23. Szücs A., Paku S., Sebestyen E., Nagy P., Dezso K. Postnatal, ontogenic liver growth accomplished by biliary/oval cell proliferation and differentiation // *PLoS One.* 2020. V. 15, No 5. Art. e0233736. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233736>.
24. Скурихин Е.Г., Жукова М.А., Пан Э.С., Ермакова Н.Н., Першина О.В., Пахомова А.В., Путрова О.Д., Сандрикина Л.А., Крупин В.А., Когай Л.В., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Дыгай А.М. Возрастные особенности реакции печени и стволовых клеток при моделировании цирроза печени // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2021. № 1. С. 24–30. <https://doi.org/10.47056/1814-3490-2021-1-24-30>.
25. Michalopoulos G.K., Khan Z. Liver stem cells: Experimental findings and implications for human liver disease // *Gastroenterology.* 2015. V. 149, No 4. P. 876–882. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.08.004>.

26. DeLeve L.D., Maretti-Mira A.C. Liver sinusoidal endothelial cell: An update // *Semin. Liver Dis.* 2017. V. 37, No 4. P. 377–387. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1617455>.
27. Papp V., Rokusz A., Dezso K., Bugyik E., Szabo V., Pavai Z., Paku S., Nagy P. Expansion of hepatic stem cell compartment boosts liver regeneration // *Stem Cells Dev.* 2014. V. 23, No 1. P. 56–65. <https://doi.org/10.1089/scd.2013.0202>.
28. Kowalik M.A., Sulas P., Ledda-Columbano G.M., Giordano S., Columbano A., Perra A. Cytokeratin-19 positivity is acquired along cancer progression and does not predict cell origin in rat hepatocarcinogenesis // *Oncotarget.* 2015. V. 6, No 36. P. 38749–38763. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5501>.
29. Yanger K., Knigin D., Zong Y., Maggs L., Gu G., Akiyama H., Pikarsky E., Stanger B.Z. Adult hepatocytes are generated by self-duplication rather than stem cell differentiation // *Cell Stem Cell.* 2014. V. 15, No 3. P. 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.06.003>.
30. Raven A., Lu W.-Y., Man T.Y., Ferreira-Gonzalez S., O'Duibhir E., Dwyer B.J., Thomson J.P., Meehan R.R., Bogorad R., Koteliensky V., Kotelevtsev Y., Ffrench-Constant C., Boulter L., Forbes S.J. Cholangiocytes act as facultative liver stem cells during impaired hepatocyte regeneration // *Nature.* 2017. V. 547, No 7663. P. 350–354. <https://doi.org/10.1038/nature23015>.
31. Tarlow B.D., Pelz C., Naugler W.E., Wakefield L., Wilson E.M., Finegold M.J., Grompe M. Bipotential adult liver progenitors are derived from chronically injured mature hepatocytes // *Cell Stem Cell.* 2014. V. 15, No 5. P. 605–618. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.09.008>.
32. Russell J.O., Lu W.-Y., Okabe H., Abrams M., Oertel M., Poddar M., Singh S., Forbes S.J., Monga S.P. Hepatocyte-specific β -catenin deletion during severe liver injury provokes cholangiocytes to differentiate into hepatocytes // *Hepatology.* 2019. V. 69, No 2. P. 742–759. <https://doi.org/10.1002/hep.30270>.
33. Manco R., Clerbaux L.-A., Verhulst S., Nader M.B., Sempoux C., Ambroise J., Bearzatto B., Gala J.L., Horsmans Y., van Grunsven L., Desdouets C., Leclercq I. Reactive cholangiocytes differentiate into proliferative hepatocytes with efficient DNA repair in mice with chronic liver injury // *Hepatology.* 2019. V. 70, No 6. P. 1180–1191. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.02.003>.
34. So J., Kim M., Lee S.-H., Ko S., Lee D.A., Park H., Azuma M., Parsons M.J., Prober D., Shin D. Attenuating the epidermal growth factor receptor–extracellular signal-regulated kinase–sex-determining region Y-box 9 axis promotes liver progenitor cell-mediated liver regeneration in Zebrafish // *Hepatology.* 2020. V. 73, No 4. P. 1494–1508. <https://doi.org/10.1002/hep.31437>.
35. Swiderska-Syn M., Syn W.K., Xie G., Krüger L., Machado M.V., Karaca G., Michelotti G.A., Choi S.S., Premont R.T., Diehl A.M. Myofibroblastic cells function as progenitors to regenerate murine livers after partial hepatectomy // *Gut.* 2014. V. 63, No 8. P. 1333–1344. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305962>.
36. Kordes C., Sawitzka I., Götze S., Herebian D., Häussinger D. Hepatic stellate cells contribute to progenitor cells and liver regeneration // *J. Clin. Invest.* 2014. V. 124, No 12. P. 5503–5515. <https://doi.org/10.1172/JCI74119>.
37. Mederacke I., Hsu C.C., Troeger J.S., Huebener P., Mu X., Dapito D.H., Pradere J.-P., Schwabe R.F. Fate tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its aetiology // *Nat. Commun.* 2013. V. 4, No 1. Art. 2823. <https://doi.org/10.1038/ncomms3823>.
38. Ma Z., Li F., Chen L., Gu T., Zhang Q., Qu Y., Xu M., Cai X., Lu L. Autophagy promotes hepatic differentiation of hepatic progenitor cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway // *J. Mol. Hist.* 2019. V. 50, No 1. P. 75–90. <https://doi.org/10.1007/s10735-018-9808-x>.
39. Durnez A., Verslype C., Nevens F., Fevery J., Aerts R., Pirenne J., Lesaffre E., Libbrecht L., Desmet V., Roskams T. The clinicopathological and prognostic

- relevance of cytokeratin 7 and 19 expression in hepatocellular carcinoma. A possible progenitor cell origin // *Histopathology*. 2006. V. 49, No 2. P. 138–151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2006.02468.x>.
40. Kholodenko I.V., Kurbatov L.K., Kholodenko R.V., Manukyan G.V., Yarygin K.N. Mesenchymal stem cells in the adult human liver: Hype or hope? // *Cells*. 2019. V. 8, No 10. Art. 1127. <https://doi.org/10.3390/cells8101127>.
 41. Furuyama K., Kawaguchi Y., Akiyama H., Horiguchi M., Kodama S., Kuhara T., Hosokawa S., Elbahrawy A., Soeda T., Koizumi M., Masui T., Kawaguchi M., Takaori K., Doi R., Nishi E., Kakinoki R., Deng J.M., Behringer R.R., Nakamura T., Uemoto S. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine // *Nat. Genet.* 2011. V. 43, No 1. P. 34–41. <https://doi.org/10.1038/ng.722>.
 42. Cardinale V., Wang Y., Carpino G., Cui C.-B., Gatto M., Rossi M., Berloco P.B., Cantafora A., Wauthier E., Furth M.E., Inverardi L., Dominguez-Bendala J., Ricordi C., Gerber D., Gaudio E., Alvaro D., Reid L. Multipotent stem/progenitor cells in human biliary tree give rise to hepatocytes, cholangiocytes, and pancreatic islets // *Hepatology*. 2011. V. 54, No 6. P. 2159–2172. <https://doi.org/10.1002/hep.24590>.
 43. Dorrell C., Erker L., Schug J., Kopp J.L., Canaday P.S., Fox A.J., Smirnova O., Duncan A.W., Finegold M.J., Sander M., Kaestner K.H., Grompe M. Prospective isolation of a bipotential clonogenic liver progenitor cell in adult mice // *Genes Dev.* 2011. V. 25, No 11. P. 1193–1203. <https://doi.org/10.1101/gad.2029411>.
 44. Li J., Xin J., Zhang L., Wu J., Jiang L., Zhou Q., Li J., Guo J., Cao H., Li L. Human hepatic progenitor cells express hematopoietic cell markers CD45 and CD109 // *Int. J. Med. Sci.* 2014. V. 11, No 1. P. 65–79. <https://doi.org/10.7150/ijms.7426>.
 45. Мавликеев М.О., Архипова С.С., Чернова О.Н., Тумова А.А., Певнев Г.О., Шафигулина А.К., Киясов А.П. Краткий курс гистологической техники: учебно-методическое пособие. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2020. 107 с.
 46. Itgen M.W., Natalie G.R., Siegel D.S., Sessions S.K., Mueller R.L. Genome size drives morphological evolution in organ-specific ways // *Evolution*. 2022. V. 76, No 7. P. 1453–1468. <https://doi.org/10.1111/evo.14519>.
 47. Thophon S., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S., Jaritkhuan S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure // *Environ. Pollut.* 2003. V. 121, No 3. P. 307–320. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00270-1](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00270-1).
 48. Odokuma E.I., Omokaro E.I. Comparative histologic anatomy of vertebrate liver // *Ann. Bioanthropol.* 2015. V. 3, No 1. P. 1–5. <https://doi.org/10.4103/2315-7992.160728>.
 49. Hermaniuk A., Rybacki M., Taylor J.R.E. Metabolic rate of diploid and triploid edible frog *Pelophylax esculentus* correlates inversely with cell size in tadpoles but not in frogs // *Physiol. Biochem. Zool.* 2017. V. 90, No 2. P. 230–239. <https://doi.org/10.1086/689408>.
 50. Hermes-Lima M., Zenteno-Savin T. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress // *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* 2002. V. 133, No 4. P. 537–556. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00080-7](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00080-7).
 51. Jackson D.C. Acid-base balance during hypoxic hypometabolism: Selected vertebrate strategies // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2004. V. 141, No 3. P. 273–283. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.01.009>.
 52. Антонова Е.И. Реактивность и пластичность тканевых компонентов печени в сравнительном ряду позвоночных в норме и после гипертермии: дис. ... докт. биол. наук. Астрахань, 2009. 219 с.
 53. D'Ario M., Tavares R., Schiessl K., Desvoves B., Gutierrez C., Howard M., Sablowski R. Cell size controlled in plants using DNA content as an internal scale // *Science*. 2021. V. 372, No 6547. P. 1176–1181. <https://doi.org/10.1126/science.abb4348>.

54. *Womack M.C., Metz M.J., Hoke K.L.* Larger genomes linked to slower development and loss of late-developing traits // *Am. Nat.* 2019. V. 194, No 6. P. 854–864. <https://doi.org/10.1086/705897>.
55. *Decena-Segarra L.P., Bizjak-Mali L., Kladnik A., Sessions S.K., Rovito S.M.* Miniaturization, genome size, and biological size in a diverse clade of salamanders // *Am. Nat.* 2020. V. 196, No 5. P. 634–648. <https://doi.org/10.1086/711019>.
56. *Johnson B.B., Searle J.B., Sparks J.P.* Genome size influences adaptive plasticity of water loss, but not metabolic rate, in lungless salamanders // *J. Exp. Biol.* 2021. V. 224, No 8. Art. jeb242196. <https://doi.org/10.1242/jeb.242196>.
57. *Kim W., Jho E.-H.* The history and regulatory mechanism of the Hippo pathway // *BMB Rep.* 2018. V. 51, No 3. P. 106–118. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2018.51.3.022>.
58. *Vasudeva N., Mishra S.* (Eds.) *Inderbir Singh's Textbook of Human Histology (With Colour Atlas and Practical Guide)*. New Delhi: Jaypee Brother's Med. Publ., 2014. 453 p.
59. *Saad A.H., Aziz A.A., Yehia I., El-Ghareeb A.W., Ismail H.* Programmed cell death in the liver of different species of anuran amphibians during metamorphosis // *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2009. V. 3, No 4. P. 4644–4655.
60. *Delgado-Coello B.* Liver regeneration observed across the different classes of vertebrates from an evolutionary perspective // *Heliyon*. 2021. V. 7, No 3. Art. e06449. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06449>.
61. *Nogawa-Kosaka N., Sugai T., Nagasawa K., Tanizaki Y., Meguro M., Aizawa Y., Maekawa S., Adachi M., Kuroki R., Kato T.* Identification of erythroid progenitors induced by erythropoietic activity in *Xenopus laevis* // *J. Exp. Biol.* 2011. V. 214, No 6. P. 921–927. <https://doi.org/10.1242/jeb.050286>.
62. *Michalopoulos G.K., Bhushan B.* Liver regeneration: Biological and pathological mechanisms and implications // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021. V. 18, No 1. P. 40–55. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0342-4>.
63. *Crawshaw G.J., Weinkle T.K.* Clinical and pathological aspects of the amphibian liver // *Semin. Avian Exot. Pet Med.* 2000. V. 9, No 3. P. 165–173. <https://doi.org/10.1053/ax.2000.7133>.
64. *Loumbourdis N.S., Vogiatzis A.K.* Impact of cadmium on liver pigmentary system of the frog *Rana ridibunda* // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2002. V. 53, No 1. P. 52–58. <https://doi.org/10.1006/eesa.2002.2153>.
65. *Stosik M.P., Tokarz-Deptula B., Deptula W.* Melanomacrophages and melanomacrophage centres in *Osteichthyes* // *Cent. Eur. J. Immunol.* 2019. V. 44, No 2. P. 201–205. <https://doi.org/10.5114/ceji.2019.87072>.
66. *Junqueira L.C., Carneiro J.* *Basic Histology: Text and Atlas*. 10th ed. N.Y., NY: McGraw-Hill, 2003. 515 p.
67. *Li N., Hua J.* Immune cells in liver regeneration // *Oncotarget*. 2017. V. 8, No 2. P. 3628–3639. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12275>.
68. *Sasai Y.* Cytosystems dynamics in self-organization of tissue architecture // *Nature*. 2013. V. 493, No 7432. P. 318–326. <https://doi.org/10.1038/nature11859>.
69. *Maroudas-Sacks Y., Keren K.* Mechanical patterning in animal morphogenesis // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 37. P. 469–493. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-120319-030931>.
70. *Michalopoulos G.K.* Principles of liver regeneration and growth homeostasis // *Compr. Physiol.* 2013. V. 3, No 1. P. 485–513. <https://doi.org/10.1002/cphy.c120014>.
71. *Miyaoka Y., Ebato K., Kato H., Arakawa S., Shimizu S., Miyajima A.* Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration // *Curr. Biol.* 2012. V. 22, No 13. P. 1166–1175. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.016>.

72. *Ishikawa J., Takeo M., Iwadata A., Koya J., Kihira M., Oshima M., Suzuki Y., Taniguchi K., Kobayashi A., Tsuji T.* Mechanical homeostasis of liver sinusoid is involved in the initiation and termination of liver regeneration // *Commun. Biol.* 2021. V. 4, No 1. Art. 409. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01936-2>.
73. *He Y.-F., Liu Y.-K., Lu H.-J., Chen J., Yang P.-Y.* Comparative proteomic analysis of primary mouse liver c-Kit⁺(CD45/TER119)⁺ stem/progenitor cells // *J. Cell. Biochem.* 2007. V. 102, No 4. P. 936–946. <https://doi.org/10.1002/jcb.21271>.
74. *Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A., Apte U.M., Michalopoulos G.K.* Expression of hepatocytic- and biliary-specific transcription factors in regenerating bile ducts during hepatocyte-to-biliary epithelial cell transdifferentiation // *Comp. Hepatol.* 2010. V. 9, No 1. Art. 9. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-9-9>.
75. *Mujyambere B., Jayaraj R., Suja S.* Cytokeratin 19 (CK19) as a marker for epithelial differentiation and malignant transformation: Its clinical relevance in diagnosis, prognosis and treatment response monitoring // *IRE J.* 2018. V. 2, No 3. P. 51–61.
76. *Li B., Dorrell C., Canaday P.S., Pelz C., Haft A., Finegold M., Grompe M.* Adult mouse liver contains two distinct populations of cholangiocytes // *Stem Cell Rep.* 2017. V. 9, No 2. P. 478–489. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.06.003>.
77. *Isse K., Lesniak A., Grama K., Maier J., Specht S., Castillo-Rama M., Lunz J., Roysam B., Michalopoulos G., Demetris A.J.* Preexisting epithelial diversity in normal human livers: A tissue-tethered cytometric analysis in portal/periportal epithelial cells // *Hepatology.* 2013. V. 57, No 4. P. 1632–1643. <https://doi.org/10.1002/hep.26131>.
78. *Carpentier R., Suñer R.E., van Hul N., Kopp J.L., Beaudry J.-B., Cordi S., Antoniou A., Raynaud P., Lepreux S., Jacquemin P., Leclercq I.A., Sander M., Lemaigre F.P.* Embryonic ductal plate cells give rise to cholangiocytes, periportal hepatocytes, and adult liver progenitor cells // *Gastroenterology.* 2011. V. 141, No 4. P. 1432–1438. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.049>.
79. *Font-Burgada J., Shalapour S., Ramaswamy S., Hsueh B., Rossell D., Umemura A., Taniguchi K., Nakagawa H., Valasek M.A., Ye L., Kopp J.L., Sander M., Carter H., Deisseroth K., Verma I.M., Karin M.* Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without giving rise to cancer // *Cell.* 2015. V. 162, No 4. P. 766–779. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.026>.
80. *Lu W.-Y., Bird T.G., Boulter L., Tsuchiya A., Cole A.M., Hay T., Guest R.V., Wojtacha D., Man T.Y., Mackinnon A., Ridgway R.A., Kendall T., Williams M.J., Jamieson T., Raven A., Hay D.C., Iredale J.P., Clarke A.R., Sansom O.J., Forbes S.J.* Hepatic progenitor cells of biliary origin with liver repopulation capacity // *Nat. Cell Biol.* 2015. V. 17, No 8. P. 971–983. <https://doi.org/10.1038/ncb3203>.
81. *Deng X., Zhang X., Li W., Feng R.-X., Li L., Yi G.-R., Zhang X.-N., Yin C., Yu H.-Y., Zhang J.-P., Lu B., Hui L., Xie W.-F.* Chronic liver injury induces conversion of biliary epithelial cells into hepatocytes // *Cell Stem Cell.* 2018. V. 23, No 1. P. 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.05.022>.
82. *Hattoum A., Rubin E., Orr A., Michalopoulos G.K.* Expression of hepatocyte epidermal growth factor receptor, FAS and glypican 3 in EpCAM-positive regenerative clusters of hepatocytes, cholangiocytes, and progenitor cells in human liver failure // *Hum. Pathol.* 2013. V. 44, No 5. P. 743–749. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2012.07.018>.
83. *Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A.V., Luo J., Tseng G.C., Michalopoulos G.K.* Mechanisms of hepatocyte growth factor-mediated and epidermal growth factormediated signaling in transdifferentiation of rat hepatocytes to biliary epithelium // *Hepatology.* 2008. V. 47, No 5. P. 1702–1713. <https://doi.org/10.1002/hep.22221>.
84. *Junge N., Sharma A.D., Ott M.* About cytokeratin 19 and the drivers of liver regeneration // *J. Hepatol.* 2018. V. 68, No 1. P. 5–7. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.10.003>.

85. *Pepe-Mooney B.J., Dill M.T., Alemany A., Ordovas-Montanes J., Matsushita Y., Rao A., Sen A., Miyazaki M., Anakk S., Dawson P.A., Ono N., Shalek A.K., van Oudenaarden A., Camargo F.D.* Single-cell analysis of the liver epithelium reveals dynamic heterogeneity and an essential role for YAP in homeostasis and regeneration // *Cell Stem Cell*. 2019. V. 25, No 1. P. 23–38. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.04.004>.
86. *Aizarani N., Saviano A., Sagar, Mailly L., Durand S., Herman J.S., Pessaux P., Baumert T.F., Grün D.* A human liver cell atlas reveals heterogeneity and epithelial progenitors // *Nature*. 2019. V. 572, No 7768. P. 199–204. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1373-2>.
87. *Stueck A.E., Wanless I.R.* Hepatocyte buds derived from progenitor cells repopulate regions of parenchymal extinction in human cirrhosis // *Hepatology*. 2015. V. 61, No 5. P. 1696–1707. <https://doi.org/10.1002/hep.27706>.
88. *Schaub J.R., Huppert K.A., Kurial S.N.T., Hsu B.Y., Cast A.E., Donnelly B., Karns R.A., Chen F., Rezvani M., Luu H.Y., Mattis A.N., Rougemont A.-L., Rosenthal P., Huppert S.S., Willenbring H.* De novo formation of the biliary system by TGFβ-mediated hepatocyte transdifferentiation // *Nature*. 2018. V. 557, No 7704. P. 247–251. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0075-5>.
89. *Spada M., Porta F., Righi D., Gazzera C., Tandoi F., Ferrero I., Fagioli F., Sanchez M.B.H., Calvo P.L., Biamino E., Bruno S., Gunetti M., Contursi C., Lauritano C., Conio A., Amoroso A., Salizzoni M., Silengo L., Camussi G., Romagnoli R.* Intrahepatic administration of human liver stem cells in infants with inherited neonatal-onset hyperammonemia: A Phase I study // *Stem Cell Rev. Rep.* 2020. V. 16, No 1. P. 186–197. <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09925-z>.
90. *Crosby H.A., Kelly D.A., Strain A.J.* Human hepatic stem-like cells isolated using *c-kit* or CD34 can differentiate into biliary epithelium // *Gastroenterology*. 2001. V. 120, No 2. P. 534–544. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.21175>.

Поступила в редакцию 23.08.2023

Принята к публикации 15.09.2023

Антонова Елена Ивановна, доктор биологических наук, профессор, директор научно-исследовательского центра фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова
пл. Ленина, д. 4/5, г. Ульяновск, 432071, Россия
E-mail: antonov_67@mail.ru

Омарова Дина Ирмековна, преподаватель Университетского колледжа

Омский государственный педагогический университет
ул. Набережная Тухачевского, д. 14, г. Омск, 644099, Россия
E-mail: din-dinochka@mail.ru

Фирсова Наталья Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий научно-исследовательского центра фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова
пл. Ленина, д. 4/5, г. Ульяновск, 432071, Россия
E-mail: n-firsova@mail.ru

Красникова Ксения Алексеевна, лаборант-исследователь лаборатории морфологии научно-исследовательского центра фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова
пл. Ленина, д. 4/5, г. Ульяновск, 432071, Россия
E-mail: krasnikovaksenia@yandex.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.1.38-65

The Role of Liver Progenitor Cells in Postembryonic Development of *Rana terrestris* under Normal Physiological ConditionsE.I. Antonova^{a*}, D.I. Omarova^{b**}, N.V. Firsova^{a***}, K.A. Krasnikova^{a****}^aResearch Center for Fundamental and Applied Problems of Bioecology and Biotechnology,
Ulyanovsk State Pedagogical University, Ulyanovsk, 432071 Russia^bOmsk State Pedagogical University, Omsk, 644099 RussiaE-mail: *antonov_67@mail.ru, **din-dinohka@mail.ru, ***n-firsova@mail.ru,
****krasnikovaksenia@yandex.ru

Received August 23, 2023; Accepted September 15, 2023

Abstract

The liver plays an essential role in the metabolism of animals, acting as a central hub for metabolic reactions. It serves as a “peripheral integrator” and balances the body’s energy needs. Its regenerative capacity is remarkably high and is maintained by the proliferation of hepatocytes, as well as hematopoietic and regional liver progenitor cells (LPC). This study investigated LPC-driven liver regeneration during postembryonic development in *Rana terrestris* under normal physiological conditions. The analysis of intrahepatic and hematopoietic markers by immunohistochemistry and flow cytometry revealed that progenitor cells with the immunophenotypes of CK19⁺ (intrahepatic progenitor cells) CD34⁺CD45⁺ (hematopoietic progenitor cell population), and CD34⁺CD45[−] (hemangioblast population) equally promote liver regeneration during the first year of postembryonic development. However, in the second and third years of postembryonic development, liver regeneration was found to be primarily associated with CK19⁺-positive cells, with a smaller contribution from CD34⁺CD45[−] cells. The results obtained were largely determined by the habitat of the amphibians, thermoregulation, and the completion of morphogenetic processes in the third year of postembryonic development. It is also noteworthy that the liver of the examined specimens remained the major hematopoietic organ throughout all observed stages of postembryonic development.

Keywords: liver, stem potential, hematopoietic progenitor cells, regional progenitor cells, regeneration, amphibians, postembryonic development, immunophenotyping, immunohistochemistry

Institutional Review Board Statement. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (2000) for the humane treatment of research animals, the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS N 123), and the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes.

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Histotopography of the liver in *Rana terrestris*. Yearlings. Hematoxylin-eosin staining. Melanomacrophage centers (a) and melanomacrophage centers in the portal field (b). Magnification 200×

Fig. 2. Histotopography of the liver in *Rana terrestris*. Two-year-old specimens. Hematoxylin-eosin staining. Melanomacrophage centers in the area of the central vein (a), isolated bile duct with hematopoietic cells (b). Magnification 200×

Fig. 3. Histotopography of the liver in *Rana terrestris*. Two-year-old specimens. Hematoxylin-eosin staining. Portal field with hematopoietic cells, (a and b), subcapsular area with hematopoietic cells (c). Magnification 200×

- Fig. 4. Histotopography of the liver in *Rana terrestris*. Three-year-old specimens. Hematoxylin-eosin staining. Melanomacrophage centers and a plethoric central vein with erythrocytes in the lumen. Magnification 200 $\times$.
- Fig. 5. Dynamics in the number of marker cells of hematopoietic stem cells and regional progenitor cells with the immunophenotypes of CD34⁺CD45⁺, CD34⁺CD45⁻, and CK19⁺ during the first (a), second (b), and third (c) year of postembryonic development in the liver of *Rana terrestris* according to the results of flow cytometry.
- Fig. 6. Correlation between CD34⁺CD45⁺, CD34⁺CD45⁻, and CK19⁺ cells in the liver of *Rana terrestris* at different stages of postembryonic development. r – rank correlation coefficient. The data were considered statistically significant at $*p < 0.05$ and $**p < 0.01$.
- Fig. 7. Liver of *Rana terrestris*. CD34⁺-cell staining: a–d – yearlings (areas of hematopoietic islets (a–c) and central vein (d)); e – two-year-old specimens; f – three-year-old specimens, magnification 200 $\times$; g – three-year-old specimens, CK19⁺-cell staining in the area of central vein, magnification 100 $\times$.

References

- Gernhöfer M., Pawert M., Schramm M., Müller E., Triebkorn R. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery*, 2001, vol. 8, nos. 3–4, pp. 241–260. <https://doi.org/10.1023/A:1012958804442>.
- Young B., Woodford P., O'Dowd G. *Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. 6th ed. London, Churchill Livingstone, 2013. 464 p.
- Akulenko N.M., Dziubenko N.V., Marushchak O.Yu., Nekrasova O.D., Oskyrko O.S. Histological changes in common toad, *Bufo bufo* (Anura, Bufonidae), liver tissue under conditions of anthropogenically transformed ecosystems. *Vestn. Zool.*, 2019, vol. 53, no. 6, pp. 501–506. <https://doi.org/10.2478/vzoo-2019-0045>.
- Gardner J.D., Laurin M., Organ C.L. The relationship between genome size and metabolic rate in extant vertebrates. *Phil. Trans. R. Soc., B*, 2020, vol. 375, no. 1793, art. 20190146. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0146>.
- So J., Kim A., Lee S.-H., Shin D. Liver progenitor cell-driven liver regeneration. *Exp. Mol. Med.*, 2020, vol. 52, no. 8, pp. 1230–1238. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0483-0>.
- Leão T., Siqueira M., Marcondes S., Franco-Belussi L., De Oliveira C., Fernandes C.E. Comparative liver morphology associated with the hepatosomatic index in five Neotropical anuran species. *Anat. Rec.*, 2021, vol. 304, no. 4, pp. 860–871. <https://doi.org/10.1002/ar.24540>.
- Dagli M.L.Z., Chaible L.M., Steiger K. Liver and pancreas. In: Sundberg J.P., Vogel P., Ward J.M. (Eds.). *Pathology of Genetically Engineered and Other Mutant Mice*. Ch. 15. Hoboken, NJ, Wiley-Blackwell, 2021, pp. 307–335. <https://doi.org/10.1002/9781119624608.ch15>.
- Moore M.A.S. Commentary: The role of cell migration in the ontogeny of the lymphoid system. *Stem Cells Dev.*, 2004, vol. 13, no. 1, pp. 1–21. <https://doi.org/10.1089/154732804773099218>.
- Sayed A.E.-D.H., Elballouz A.I., Wassif E.T. Histological and histochemical studies on the early developmental stages of the Egyptian toad *Bufo regularis* Reuss. *Open J. Anim. Sci.*, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 142–156. <https://doi.org/10.4236/ojas.2015.52017>.
- Yaparla A., Reeves P., Grayfer L. Myelopoiesis of the amphibian *Xenopus laevis* is segregated to the bone marrow, away from their hematopoietic peripheral liver. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 10, art. 3015. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03015>.
- Nagy P., Thorgeirsson S.S., Grisham J.W. Organizational principles of the liver. In: Arias I.M., Alter H.J., Boyer J.L., Cohen D.E., Shafritz D.A., Thorgeirsson S.S., Wolkoff A.W. (Eds.). *The Liver: Biology and Pathobiology*. Ch. 1. Hoboken, NJ, Wiley-Blackwell, 2020, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1002/9781119436812.ch1>.
- Saito M., Kitamura H., Sugiyama K. Liver gangliosides of various animals ranging from fish to mammalian species. *Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol.*, 2001, vol. 129, no. 4, pp. 747–758. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00379-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00379-7).
- Akiyoshi H., Inoue A.M. Comparative histological study of hepatic architecture in the three orders amphibian livers. *Comp. Hepatol.*, 2012, vol. 11, no. 1, art. 2. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-11-2>.

14. Akiyoshi H., Inoue A.M. Comparative histological study of teleost livers in relation to phylogeny. *Zool. Sci.*, 2004, vol. 21, no. 8, pp. 841–850. <https://doi.org/10.2108/zsj.21.841>.
15. Ohashi A., Saito N., Kashimoto R., Furukawa S., Yamamoto S., Satoh A. Axolotl liver regeneration is accomplished via compensatory congestion mechanisms regulated by ERK signaling after partial hepatectomy. *Dev. Dyn.*, 2021, vol. 250, no. 6, pp. 838–851. <https://doi.org/10.1002/dvdy.262>.
16. Lebedeva E.I. The role of CK19-positive portal zone cells in thioacetamide-induced rat liver cirrhosis. *Cell Tiss. Biol.*, 2021, vol. 15, no. 6, pp. 568–576. <https://doi.org/10.1134/S1990519X21060067>.
17. Wang B., Zhao L., Fish M., Logan C.Y., Nusse R. Self-renewing diploid Axin2⁺ cells fuel homeostatic renewal of the liver. *Nature*, 2015, vol. 524, no. 7564, pp. 180–185. <https://doi.org/10.1038/nature14863>.
18. Lopez-Luque J., Fabregat I. Revisiting the liver: From development to regeneration – what we ought to know! *Int. J. Dev. Biol.*, 2018, vol. 62, no. 6–7–8, pp. 441–451. <https://doi.org/10.1387/ijdb.170264JL>.
19. Bruno S., Sanchez M.B.H., Chiabotto G., Fonsato V., Navarro-Tableros V., Pasquino C., Tapparo M., Camussi G. Human liver stem cells: A liver-derived mesenchymal stromal cell-like population with pro-regenerative properties. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2021, vol. 9, art. 644088. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.644088>.
20. Miyajima A., Tanaka M., Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming. *Cell Stem Cell*, 2014, vol. 14, no. 5, pp. 561–574. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.04.010>.
21. Duncan A.W., Dorrell C., Grompe M. Stem cells and liver regeneration. *Gastroenterology*, 2009, vol. 137, no. 2, pp. 466–481. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.044>.
22. Stanger B.Z. Cellular homeostasis and repair in the mammalian liver. *Annu. Rev. Physiol.*, 2015, vol. 77, pp. 179–200. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170255>.
23. Szücs A., Paku S., Sebestyen E., Nagy P., Dezso K. Postnatal, ontogenic liver growth accomplished by biliary/oval cell proliferation and differentiation. *PLoS One*, 2020, vol. 15, no. 5, art. e0233736. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233736>.
24. 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., Dygai A.M. Age-related features of the response of the liver and stem cells during modeling of liver cirrhosis. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2021, vol. 171, no. 1, pp. 127–133. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05184-6>.
25. Michalopoulos G.K., Khan Z. Liver stem cells: Experimental findings and implications for human liver disease. *Gastroenterology*, 2015, vol. 149, no. 4, pp. 876–882. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.08.004>.
26. DeLeve L.D., Maretta-Mira A.C. Liver sinusoidal endothelial cell: An update. *Semin. Liver Dis.*, 2017, vol. 37, no. 4, pp. 377–387. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1617455>.
27. Papp V., Rokusz A., Dezso K., Bugyik E., Szabo V., Pavai Z., Paku S., Nagy P. Expansion of hepatic stem cell compartment boosts liver regeneration. *Stem Cells Dev.*, 2014, vol. 23, no. 1, pp. 56–65. <https://doi.org/10.1089/scd.2013.0202>.
28. Kowalik M.A., Sulas P., Ledda-Columbano G.M., Giordano S., Columbano A., Perra A. Cytokeratin-19 positivity is acquired along cancer progression and does not predict cell origin in rat hepatocarcinogenesis. *Oncotarget*, 2015, vol. 6, no. 36, pp. 38749–38763. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5501>.
29. Yanger K., Knigin D., Zong Y., Maggs L., Gu G., Akiyama H., Pikarsky E., Stanger B.Z. Adult hepatocytes are generated by self-duplication rather than stem cell differentiation. *Cell Stem Cell*, 2014, vol. 15, no. 3, pp. 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.06.003>.
30. Raven A., Lu W.-Y., Man T.Y., Ferreira-Gonzalez S., O'Duibhir E., Dwyer B.J., Thomson J.P., Meehan R.R., Bogorad R., Kotliansky V., Kotelevtsev Y., Ffrench-Constant C., Boulter L., Forbes S.J. Cholangiocytes act as facultative liver stem cells during impaired hepatocyte regeneration. *Nature*, 2017, vol. 547, no. 7663, pp. 350–354. <https://doi.org/10.1038/nature23015>.
31. Tarlow B.D., Pelz C., Naugler W.E., Wakefield L., Wilson E.M., Finegold M.J., Grompe M. Bipotential adult liver progenitors are derived from chronically injured mature hepatocytes. *Cell Stem Cell*, 2014, vol. 15, no. 5, pp. 605–618. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.09.008>.

32. Russell J.O., Lu W.-Y., Okabe H., Abrams M., Oertel M., Poddar M., Singh S., Forbes S.J., Monga S.P. Hepatocyte-specific β -catenin deletion during severe liver injury provokes cholangiocytes to differentiate into hepatocytes. *Hepatology*, 2019, vol. 69, no. 2, pp. 742–759. <https://doi.org/10.1002/hep.30270>.
33. Manco R., Clerbaux L.-A., Verhulst S., Nader M.B., Sempoux C., Ambroise J., Bearzatto B., Gala J.L., Horsmans Y., van Grunsven L., Desdouets C., Leclercq I. Reactive cholangiocytes differentiate into proliferative hepatocytes with efficient DNA repair in mice with chronic liver injury. *Hepatology*, 2019, vol. 70, no. 6, pp. 1180–1191. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.02.003>.
34. So J., Kim M., Lee S.-H., Ko S., Lee D.A., Park H., Azuma M., Parsons M.J., Prober D., Shin D. Attenuating the epidermal growth factor receptor–extracellular signal-regulated kinase–sex-determining region Y-box 9 axis promotes liver progenitor cell-mediated liver regeneration in Zebrafish. *Hepatology*, 2020, vol. 73, no. 4, pp. 1494–1508. <https://doi.org/10.1002/hep.31437>.
35. Swiderska-Syn M., Syn W.K., Xie G., Krüger L., Machado M.V., Karaca G., Michelotti G.A., Choi S.S., Premont R.T., Diehl A.M. Myofibroblastic cells function as progenitors to regenerate murine livers after partial hepatectomy. *Gut*, 2014, vol. 63, no. 8, pp. 1333–1344. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305962>.
36. Kordes C., Sawitzka I., Götze S., Herebian D., Häussinger D. Hepatic stellate cells contribute to progenitor cells and liver regeneration. *J. Clin. Invest.*, 2014, vol. 124, no. 12, pp. 5503–5515. <https://doi.org/10.1172/JCI74119>.
37. Mederacke I., Hsu C.C., Troeger J.S., Huebener P., Mu X., Dapito D.H., Pradere J.-P., Schwabe R.F. Fate tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its aetiology. *Nat. Commun.*, 2013, vol. 4, no. 1, art. 2823. <https://doi.org/10.1038/ncomms3823>.
38. Ma Z., Li F., Chen L., Gu T., Zhang Q., Qu Y., Xu M., Cai X., Lu L. Autophagy promotes hepatic differentiation of hepatic progenitor cells by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *J. Mol. Hist.*, 2019, vol. 50, no. 1, pp. 75–90. <https://doi.org/10.1007/s10735-018-9808-x>.
39. Durnez A., Verslype C., Nevens F., Fevery J., Aerts R., Pirenne J., Lesaffre E., Libbrecht L., Desmet V., Roskams T. The clinicopathological and prognostic relevance of cytokeratin 7 and 19 expression in hepatocellular carcinoma. A possible progenitor cell origin. *Histopathology*, 2006, vol. 49, no. 2, pp. 138–151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2006.02468.x>.
40. Kholodenko I.V., Kurbatov L.K., Kholodenko R.V., Manukyan G.V., Yarygin K.N. Mesenchymal stem cells in the adult human liver: Hype or hope? *Cells*, 2019, vol. 8, no. 10, art. 1127. <https://doi.org/10.3390/cells8101127>.
41. Furuyama K., Kawaguchi Y., Akiyama H., Horiguchi M., Kodama S., Kuhara T., Hosokawa S., Elbahrawy A., Soeda T., Koizumi M., Masui T., Kawaguchi M., Takaori K., Doi R., Nishi E., Kakinoki R., Deng J.M., Behringer R.R., Nakamura T., Uemoto S. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. *Nat. Genet.*, 2011, vol. 43, no. 1, pp. 34–41. <https://doi.org/10.1038/ng.722>.
42. Cardinale V., Wang Y., Carpino G., Cui C.-B., Gatto M., Rossi M., Berloco P.B., Cantafora A., Wauthier E., Furth M.E., Inverardi L., Dominguez-Bendala J., Ricordi C., Gerber D., Gaudio E., Alvaro D., Reid L. Multipotent stem/progenitor cells in human biliary tree give rise to hepatocytes, cholangiocytes, and pancreatic islets. *Hepatology*, 2011, vol. 54, no. 6, pp. 2159–2172. <https://doi.org/10.1002/hep.24590>.
43. Dorrell C., Erker L., Schug J., Kopp J.L., Canaday P.S., Fox A.J., Smirnova O., Duncan A.W., Finegold M.J., Sander M., Kaestner K.H., Grompe M. Prospective isolation of a bipotential clonogenic liver progenitor cell in adult mice. *Genes Dev.*, 2011, vol. 25, no. 11, pp. 1193–1203. <https://doi.org/10.1101/gad.2029411>.
44. Li J., Xin J., Zhang L., Wu J., Jiang L., Zhou Q., Li J., Guo J., Cao H., Li L. Human hepatic progenitor cells express hematopoietic cell markers CD45 and CD109. *Int. J. Med. Sci.*, 2014, vol. 11, no. 1, pp. 65–79. <https://doi.org/10.7150/ijms.7426>.
45. Mavlikeev M.O., Arkhipova S.S., Chernova O.N., Titova A.A., Pevnev G.O., Shafigullina A.K., Kiyasov A.P. *Kratkii kurs gistologicheskoi tekhniki: uchebno-metodicheskoe posobie* [A Short Course of Histological Techniques: A Guidance Manual]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 2020. 107 p. (In Russian)

46. Itgen M.W., Natalie G.R., Siegel D.S., Sessions S.K., Mueller R.L. Genome size drives morphological evolution in organ-specific ways. *Evolution*, 2022, vol. 76, no. 7, pp. 1453–1468. <https://doi.org/10.1111/evo.14519>.
47. Thophon S., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S., Jaritkhuan S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Pollut.*, 2003, vol. 121, no. 3, pp. 307–320. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00270-1](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00270-1).
48. Odokuma E.I., Omokaro E.I. Comparative histologic anatomy of vertebrate liver. *Ann. Bioanthropol.*, 2015, vol. 3, no. 1, pp. 1–5. <https://doi.org/10.4103/2315-7992.160728>.
49. Hermianiuk A., Rybacki M., Taylor J.R.E. Metabolic rate of diploid and triploid edible frog *Pelophylax esculentus* correlates inversely with cell size in tadpoles but not in frogs. *Physiol. Biochem. Zool.*, 2017, vol. 90, no. 2, pp. 230–239. <https://doi.org/10.1086/689408>.
50. Hermes-Lima M., Zenteno-Savin T. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.*, 2002, vol. 133, no. 4, pp. 537–556. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00080-7](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00080-7).
51. Jackson D.C. Acid-base balance during hypoxic hypometabolism: Selected vertebrate strategies. *Respir. Physiol. Neurobiol.*, 2004, vol. 141, no. 3, pp. 273–283. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.01.009>.
52. Antonova E.I. Reactivity and plasticity of liver tissue components in a comparative series of vertebrates before and after hyperthermia. *Doct. Biol. Sci. Diss.* Astrakhan, 2009. 219 p. (In Russian)
53. D’Ario M., Tavares R., Schiessl K., Desvoyes B., Gutierrez C., Howard M., Sablowski R. Cell size controlled in plants using DNA content as an internal scale. *Science*, 2021, vol. 372, no. 6547, pp. 1176–1181. <https://doi.org/10.1126/science.abb4348>.
54. Womack M.C., Metz M.J., Hoke K.L. Larger genomes linked to slower development and loss of late-developing traits. *Am. Nat.*, 2019, vol. 194, no. 6, pp. 854–864. <https://doi.org/10.1086/705897>.
55. Decena-Segarra L.P., Bizjak-Mali L., Kladnik A., Sessions S.K., Rovito S.M. Miniaturization, genome size, and biological size in a diverse clade of salamanders. *Am. Nat.*, 2020, vol. 196, no. 5, pp. 634–648. <https://doi.org/10.1086/711019>.
56. Johnson B.B., Searle J.B., Sparks J.P. Genome size influences adaptive plasticity of water loss, but not metabolic rate, in lungless salamanders. *J. Exp. Biol.*, 2021, vol. 224, no. 8, art. jeb242196. <https://doi.org/10.1242/jeb.242196>.
57. Kim W., Jho E.-H. The history and regulatory mechanism of the Hippo pathway. *BMB Rep.*, 2018, vol. 51, no. 3, pp. 106–118. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2018.51.3.022>.
58. Vasudeva N., Mishra S. (Eds.) *Inderbir Singh’s Textbook of Human Histology (with Colour Atlas and Practical Guide)*. New Delhi, Jaypee Brother’s Med. Publ., 2014. 453 p.
59. Saad A.H., Aziz A.A., Yehia I., El-Ghareeb A.W., Ismail H. Programmed cell death in the liver of different species of anuran amphibians during metamorphosis. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 2009, vol. 3, no. 4, pp. 4644–4655.
60. Delgado-Coello B. Liver regeneration observed across the different classes of vertebrates from an evolutionary perspective. *Heliyon*, 2021, vol. 7, no. 3, art. e06449. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06449>.
61. Nogawa-Kosaka N., Sugai T., Nagasawa K., Tanizaki Y., Meguro M., Aizawa Y., Maekawa S., Adachi M., Kuroki R., Kato T. Identification of erythroid progenitors induced by erythropoietic activity in *Xenopus laevis*. *J. Exp. Biol.*, 2011, vol. 214, no. 6, pp. 921–927. <https://doi.org/10.1242/jeb.050286>.
62. Michalopoulos G.K., Bhushan B. Liver regeneration: Biological and pathological mechanisms and implications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 40–55. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0342-4>.
63. Crawshaw G.J., Weinkle T.K. Clinical and pathological aspects of the amphibian liver. *Semin. Avian Exot. Pet Med.*, 2000, vol. 9, no. 3, pp. 165–173. <https://doi.org/10.1053/ax.2000.7133>.

64. Loumbourdis N.S., Vogiatzis A.K. Impact of cadmium on liver pigmentary system of the frog *Rana ridibunda*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2002, vol. 53, no. 1, pp. 52–58. <https://doi.org/10.1006/eesa.2002.2153>.
65. Stosik M.P., Tokarz-Deptula B., Deptula W. Melanomacrophages and melanomacrophage centres in *Osteichthyes*. *Cent. Eur. J. Immunol.*, 2019, vol. 44, no. 2, pp. 201–205. <https://doi.org/10.5114/ceji.2019.87072>.
66. Junqueira L.C., Carneiro J. *Basic Histology: Text and Atlas*. 10th ed. New York, NY, McGraw-Hill, 2003. 515 p.
67. Li N., Hua J. Immune cells in liver regeneration. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 2, pp. 3628–3639. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12275>.
68. Sasai Y. Cytosystems dynamics in self-organization of tissue architecture. *Nature*, 2013, vol. 493, no. 7432, pp. 318–326. <https://doi.org/10.1038/nature11859>.
69. Maroudas-Sacks Y., Keren K. Mechanical patterning in animal morphogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2021, vol. 37, pp. 469–493. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-120319-030931>.
70. Michalopoulos G.K. Principles of liver regeneration and growth homeostasis. *Compr. Physiol.*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 485–513. <https://doi.org/10.1002/cphy.c120014>.
71. Miyaoka Y., Ebato K., Kato H., Arakawa S., Shimizu S., Miyajima A. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration. *Curr. Biol.*, 2012, vol. 22, no. 13, pp. 1166–1175. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.016>.
72. Ishikawa J., Takeo M., Iwadate A., Koya J., Kihira M., Oshima M., Suzuki Y., Taniguchi K., Kobayashi A., Tsuji T. Mechanical homeostasis of liver sinusoid is involved in the initiation and termination of liver regeneration. *Commun. Biol.*, 2021, vol. 4, no. 1, art. 409. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01936-2>.
73. He Y.-F., Liu Y.-K., Lu H.-J., Chen J., Yang P.-Y. Comparative proteomic analysis of primary mouse liver c-Kit⁺(CD45/TER119)⁺ stem/progenitor cells. *J. Cell. Biochem.*, 2007, vol. 102, no. 4, pp. 936–946. <https://doi.org/10.1002/jcb.21271>.
74. Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A., Apte U.M., Michalopoulos G.K. Expression of hepatocytic- and biliary-specific transcription factors in regenerating bile ducts during hepatocyte-to-biliary epithelial cell transdifferentiation. *Comp. Hepatol.*, 2010, vol. 9, no. 1, art. 9. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-9-9>.
75. Mujyambere B., Jayaraj R., Suja S. Cytokeratin 19 (CK19) as a marker for epithelial differentiation and malignant transformation: Its clinical relevance in diagnosis, prognosis and treatment response monitoring. *IRE J.*, 2018, vol. 2, no. 3, pp. 51–61.
76. Li B., Dorrell C., Canaday P.S., Pelz C., Haft A., Finegold M., Grompe M. Adult mouse liver contains two distinct populations of cholangiocytes. *Stem Cell Rep.*, 2017, vol. 9, no. 2, pp. 478–489. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.06.003>.
77. Isse K., Lesniak A., Grama K., Maier J., Specht S., Castillo-Rama M., Lunz J., Roysam B., Michalopoulos G., Demetris A.J. Preexisting epithelial diversity in normal human livers: A tissue-tethered cytometric analysis in portal/periportal epithelial cells. *Hepatology*, 2013, vol. 57, no. 4, pp. 1632–1643. <https://doi.org/10.1002/hep.26131>.
78. Carpentier R., Suñer R.E., van Hul N., Kopp J.L., Beaudry J.-B., Cordi S., Antoniou A., Raynaud P., Lepreux S., Jacquemin P., Leclercq I.A., Sander M., Lemaigre F.P. Embryonic ductal plate cells give rise to cholangiocytes, periportal hepatocytes, and adult liver progenitor cells. *Gastroenterology*, 2011, vol. 141, no. 4, pp. 1432–1438. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.049>.
79. Font-Burgada J., Shalpour S., Ramaswamy S., Hsueh B., Rossell D., Umemura A., Taniguchi K., Nakagawa H., Valasek M.A., Ye L., Kopp J.L., Sander M., Carter H., Deisseroth K., Verma I.M., Karin M. Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without giving rise to cancer. *Cell*, 2015, vol. 162, no. 4, pp. 766–779. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.026>.
80. Lu W.-Y., Bird T.G., Boulter L., Tsuchiya A., Cole A.M., Hay T., Guest R.V., Wojtacha D., Man T.Y., Mackinnon A., Ridgway R.A., Kendall T., Williams M.J., Jamieson T., Raven A., Hay D.C., Iredale J.P., Clarke A.R., Sansom O.J., Forbes S.J. Hepatic progenitor cells of biliary

- origin with liver repopulation capacity. *Nat. Cell Biol.*, 2015, vol. 17, no. 8, pp. 971–983. <https://doi.org/10.1038/ncb3203>.
81. Deng X., Zhang X., Li W., Feng R.-X., Li L., Yi G.-R., Zhang X.-N., Yin C., Yu H.-Y., Zhang J.-P., Lu B., Hui L., Xie W.-F. Chronic liver injury induces conversion of biliary epithelial cells into hepatocytes. *Cell Stem Cell*, 2018, vol. 23, no. 1, pp. 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.05.022>.
 82. Hattoum A., Rubin E., Orr A., Michalopoulos G.K. Expression of hepatocyte epidermal growth factor receptor, FAS and glypican 3 in EpCAM-positive regenerative clusters of hepatocytes, cholangiocytes, and progenitor cells in human liver failure. *Hum. Pathol.*, 2013, vol. 44, no. 5, pp. 743–749. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2012.07.018>.
 83. Limaye P.B., Bowen W.C., Orr A.V., Luo J., Tseng G.C., Michalopoulos G.K. Mechanisms of hepatocyte growth factor-mediated and epidermal growth factor-mediated signaling in transdifferentiation of rat hepatocytes to biliary epithelium. *Hepatology*, 2008, vol. 47, no. 5, pp. 1702–1713. <https://doi.org/10.1002/hep.22221>.
 84. Junge N., Sharma A.D., Ott M. About cytokeratin 19 and the drivers of liver regeneration. *J. Hepatol.*, 2018, vol. 68, no. 1, pp. 5–7. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.10.003>.
 85. Pepe-Mooney B.J., Dill M.T., Alemany A., Ordovas-Montanes J., Matsushita Y., Rao A., Sen A., Miyazaki M., Anakk S., Dawson P.A., Ono N., Shalek A.K., van Oudenaarden A., Camargo F.D. Single-cell analysis of the liver epithelium reveals dynamic heterogeneity and an essential role for YAP in homeostasis and regeneration. *Cell Stem Cell*, 2019, vol. 25, no. 1, pp. 23–38. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.04.004>.
 86. Aizarani N., Saviano A., Sagar, Mailly L., Durand S., Herman J.S., Pessaux P., Baumert T.F., Grün D. A human liver cell atlas reveals heterogeneity and epithelial progenitors. *Nature*, 2019, vol. 572, no. 7768, pp. 199–204. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1373-2>.
 87. Stueck A.E., Wanless I.R. Hepatocyte buds derived from progenitor cells repopulate regions of parenchymal extinction in human cirrhosis. *Hepatology*, 2015, vol. 61, no. 5, pp. 1696–1707. <https://doi.org/10.1002/hep.27706>.
 88. Schaub J.R., Huppert K.A., Kurial S.N.T., Hsu B.Y., Cast A.E., Donnelly B., Karns R.A., Chen F., Rezvani M., Luu H.Y., Mattis A.N., Rougemont A.-L., Rosenthal P., Huppert S.S., Willenbring H. De novo formation of the biliary system by TGFβ-mediated hepatocyte transdifferentiation. *Nature*, 2018, vol. 557, no. 7704, pp. 247–251. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0075-5>.
 89. Spada M., Porta F., Righi D., Gazzera C., Tandoi F., Ferrero I., Fagioli F., Sanchez M.B.H., Calvo P.L., Biamino E., Bruno S., Gunetti M., Contursi C., Lauritano C., Conio A., Amoroso A., Salizzoni M., Silengo L., Camussi G., Romagnoli R. Intrahepatic administration of human liver stem cells in infants with inherited neonatal-onset hyperammonemia: A Phase I study. *Stem Cell Rev. Rep.*, 2020, vol. 16, no. 1, pp. 186–197. <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09925-z>.
 90. Crosby H.A., Kelly D.A., Strain A.J. Human hepatic stem-like cells isolated using *c-kit* or CD34 can differentiate into biliary epithelium. *Gastroenterology*, 2001, vol. 120, no. 2, pp. 534–544. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.21175>.

⟨ **Для цитирования:** Антонова Е.И., Омарова Д.И., Фирсова Н.В., Красникова К.А. Роль клеток-предшественников печени амфибий вида *Rana terrestris* в постэмбриональном развитии в условиях физиологической нормы // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 1. С. 38–65. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.38-65>. ⟩

⟨ **For citation:** Antonova E.I., Omarova D.I., Firsova N.V., Krasnikova K.A. The role of liver progenitor cells in postembryonic development of *Rana terrestris* under normal physiological conditions. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 1, pp. 38–65. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.1.38-65>. (In Russian) ⟩