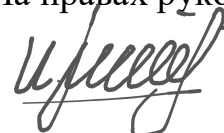


МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



Сариева Мария Спартаковна

ПОСТНАТАЛЬНЫЙ МОРФОГЕНЕЗ ПЕЧЕНИ У КРЫС

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология,
фармакология и токсикология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
доцент Дилекова О.В.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Возрастные особенности печени млекопитающих.....	12
1.2. Структурно-функциональная характеристика печени в постнатальном онтогенезе.....	16
1.2.1. Особенности мезотелиально-мезенхимального перехода и трансдифференцировки гепатоцитов в возрастном аспекте.....	24
1.3. Биосинтетическая экспрессия маркера белков пролиферации и синтетическая функция печени животных.....	31
1.4. Клетки-предшественники гемопоэтического и мезенхимального происхождения печени.....	43
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	51
2.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	51
2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ.....	56
2.2.1. Особенности гистологического строения печени крыс в постнатальном онтогенезе.....	56
2.2.2. Экспрессия нуклеолярных белков и маркера пролиферативной активности в постнатальном развитии печени крыс.....	69
2.2.3. Экспрессия стволовых клеток гемопоэтического и мезенхимального происхождения в постнатальном развитии печени крыс.....	79
3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	84
4. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	90

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГХ (ИНС) – Immunohistochemistry; иммуногистохимическое исследование

РНК – рибонуклеиновая кислота

пре-рРНК – прерибосомальная РНК

рРНК – рибосомная РНК

мРНК – матричная РНК

ЯЦО – ядерно-цитоплазматическое отношение

Ag-ОЯОР-белок – аргирофильный белок области ядрышковых организаторов

NCL – нуклеолин

NPM1 – нуклеофозмин

FBL – фибрилларин

α -SMA – альфа-гладкомышечный актин

SCF – постнатальные стволовые клетки

ГСК – Гемопоэтические стволовые клетки

МСК – Мезенхимальные стволовые клетки

N – оптическая плотность экспрессируемых клеток

n – количество экспрессируемых гепатоцитов

S – площадь среза

Ся – площадь ядра клетки

Sц – площадь цитоплазмы

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследований и степень её разработанности.

Печень представляет собой объект обширного исследования, поскольку является ключевым элементом, обеспечивающим здоровье и благополучие всего организма. Существует классическое представление о печени, как о пищеварительном агенте организма — в частности, за счёт выработки желчи, необходимой для эмульгирования жиров и нормального протекания процессов пищеварения в кишечнике. Однако если рассматривать данную железу в качестве «химического завода», то можно прийти к выводу о том, что, благодаря своему сложному клеточному составу орган играет ключевую роль во многих биохимических и физиологических процессах, далеко выходящих за рамки пищеварения. Помимо участия в метаболизме липидов, печень активно вовлечена в углеводный и белковый обмен, регуляцию уровня глюкозы в крови, депонирование гликогена, синтез и метаболизм гормонов, витаминов и микроэлементов (Сухова Т. И., 1978; Милюков Е. В. и соавт., 2017; Trefts E. et al., 2017; Лебедева Е. И., 2023; Zhang W. et al., 2023).

Гепатоциты содержат большое количество рибосом, активно синтезирующих разнообразные белки, необходимые как для внутренних нужд органа, так и для поддержания гомеостаза всего организма. Благодаря рибосомальной РНК (рРНК) происходит формирование каркаса рибосом, в которых локализуются белки и осуществляется трансляция матричной РНК (мРНК). Кровоснабжение печени тесно связано с метаболической активностью органа. Данный процесс снабжает печень компонентами, необходимыми для выполнения важных функций, таких как: глюконеогенез, синтез белков, детоксикация (Сухова Т. И., 1978; Trefts E. et al., 2017; Zhang W. et al., 2023)

Для проведения исследований различного характера необходимы соответствующие модели животных, позволяющие воспроизводить биологические процессы, близкие к человеческим, и тестировать новые

терапевтические подходы в контролируемых условиях. Крысы являются одними из самых востребованных лабораторных животных, поскольку их генетический аппарат схож с таковым человека. Кроме того, крысы обладают рядом преимуществ с точки зрения финансовой, практической и особенно этической доступности (Гамбарян П. П. и соавт., 1955; Беляков В. И. и соавт., 2021).

Крысы относятся к роду грызунов (*Rattus*), семейству мышиные (*Muridae*), и произошли от грызунов подотряда белкообразных. Эволюционная история этих животных насчитывает миллионы лет, и за это время они продемонстрировали высокую адаптивность к разнообразным условиям среды, что отразилось на их физиологических и поведенческих характеристиках. В мире регистрируется около 70 видов крыс, различающихся по ареалу, размерам, особенностям питания и поведения, однако в России встречаются только 2: серая или пасюк (*Rattus norvegicus* Berk) и черная (*Rattus rattus* L.). Для лабораторных исследований в качестве животных моделей также используют альбиносов данных видов грызунов (Гамбарян П. П. и соавт., 1955; Беляков В. И. и соавт., 2021).

Данные грызуны очень чувствительны и довольно устойчивы к различным заболеваниям, что делает их особенно ценными для биомедицинских исследований. У них быстротечный жизненный цикл, они экономически выгодны, не агрессивны, из-за небольших размеров удобны в проведении различных манипуляций, дают большой приплод, также более легкий доступ к молекулярным и генетическим инструментам. Крысы очень удобны в моделировании опухолей различной этиологии, установления степени токсичности лекарственных препаратов, изучении гормональных и витаминных препаратов, когнитивных процессов (Jaramillo S. et al, 2014; Vdoviaková K. et al., 2016; Бердникова А. А. и соавт., 2017; Гайдай Е. А. и соавт., 2019).

Синтез рРНК и белков осуществляется в важнейшем компартменте клетки – ядре, которое выполняет не только функцию хранения генетической

информации, но и служит центральным узлом биосинтетических процессов. Изменение архитектоники ядра позволяет дать оценку белково-синтетической функции клетки и является индикатором скорости пролиферативной активности гепатоцитов. При высокой функциональной нагрузке или в условиях регенерации печени морфология ядра трансформируется. Аргирофильные белки, а именно, нуклеолин/NCL и нуклеофозмин/NPM1/B23, идентифицируют как ключевые регуляторы скорости фаз прохождения клеточного цикла. Эти высококонсервативные ядрышковые белки участвуют в множестве процессов: от биогенеза рибосом и стабилизации рРНК до контроля клеточного цикла и ответа на стресс. Оба белка динамически перераспределяются между ядрышком, нуклеоплазмой и цитоплазмой в зависимости от фазы клеточного цикла. Архитектоника ядра и динамика аргирофильных белков служат не просто морфологическими маркерами, а функциональными индикаторами состояния клетки: они интегрируют сигналы о метаболической нагрузке, готовности к делению и стрессовых воздействиях, позволяя точно оценить белково-синтетическую активность и пролиферативный статус гепатоцитов в норме и при патологии (Боташева В. С. и соавт., 2014; Данников С. П. и соавт., 2019; Sekhar K. R. et al., 2023; Xue X. et al., 2024).

Цель исследования.

Определить закономерности роста, дифференцировки и регенерации печени крыс в постнатальном онтогенезе.

Задачи исследования:

1. Выявить закономерности морфологической и морфометрической организации печени у крыс в онтогенезе.
2. Описать пролиферативную и белково-синтетическую функцию клеток печени у крыс в возрастном аспекте.
3. Определить стволовой компартмент гемопоэтического и мезенхимального генеза в печени у животных в возрастном аспекте.

Объект исследований. Физиологически здоровые самцы черных (*Rattus rattus* L.) и серых крыс (*Rattus norvegicus* Berk).

Предмет исследований. Морфологический, морфометрический и стволовой профиль печени крыс в постнатальном онтогенезе.

Научная новизна.

Впервые проведен морфометрический анализ печени самцов крыс в постнатальном онтогенезе.

У крыс в возрастном аспекте представлены сведения о нуклеолярных белках (нуклеолин/NCL, нуклеофозмин/B23, фибрилларин/FBL) и маркера пролиферативной активности (ki-67).

Установлено, что в печени в постнатальном онтогенезе присутствует постоянный пул прогениторных стволовых c-kit (CD117).

Впервые установлено, что в печени крыс на протяжении постнатального онтогенеза визуализируется α -SMA в гепатоцитах, что является признаком движения гепатоцитов.

Представлены сведения о физиологической регенерации печени, заключающейся в трансдифференцировке гепатоцитов.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Результаты исследований расширяют и дополняют фундаментальные сведения по закономерностям структурной и адаптивной пластичности, физиологической регенерации печени в постнатальном онтогенезе, с учетом типа питания и физиологических особенностей организма. Полученные данные имеют общебиологическое значение для сравнительной анатомии, гистологии, физиологии, патоморфологии и патофизиологии понимания аспектов морфогенеза и функционирования печени крыс, а также позволяет сформулировать новые концептуальные направления и перспективные задачи в исследовании пищеварительного аппарата. Выявленные возрастные закономерности морфологических и функциональных показателей структур печени крыс могут быть использованы в практической деятельности врачами в качестве константы для понимания патогенеза патологии в печени, а также

для прогнозирования и оценки повреждений в этом органе пищеварительного аппарата. Полученные данные о нуклеолярных белках (нуклеофозмин/B23, нуклеолин/NCL, фибрилларин/FBL) и маркера пролиферативной активности (ki-67) расширяют и дополняют фундаментальные сведения по морфофункциональным особенностям печени у крыс в постнатальном онтогенезе. Представленные новые данные о наличии в печени крыс стволового компартмента клеток гемопоэтического (c-kit (CD117)) и мезенхимального (α-SMA) происхождения являются базой для их выделения и изучения, что позволяет глубже понять регенеративные возможности печени в постнатальном онтогенезе и открывает перспективы для разработки новых методов лечения млекопитающих с использованием клеточных технологий. Установленное наличие прогениторных стволовых клеток в постнатальном онтогенезе может быть использовано в практике морфологов при иммуногистохимическом исследовании аутопсийного материала тканей печени.

По теме диссертационного исследования были изданы методические рекомендации «Морфологическая и иммуногистохимическая оценка печени лабораторных животных в постнатальном онтогенезе» (Иваниди М. С. и соавт., 2025).

Методология и методы исследования.

Результаты исследований получены с использованием гистологических, иммуногистохимических, морфометрических и статистических методов исследований. Особенностью работы является анализ возрастного аспекта, а также исследование экспрессии B23, NCL, FBL, ki-67, c-kit (CD117) и α-SMA-маркеров в постнатальном развитии печени крыс.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Динамика морфологической и морфометрической организации печени у крыс имеет волнообразный характер, что обусловлено физиологическими изменениями организма.

2. Биосинтетическая экспрессия маркерных белков пролиферации и синтетической функции зависит от структурно-функциональных изменений в печени животных.

3. В печени крыс в постнатальном онтогенезе имеется постоянный пул стволовых клеток предшественников гемопоэтического и мезенхимального происхождения, который обеспечивает физиологическую регенерацию органа.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность проведенных исследований основана на том, что все лабораторные, гистологические, морфометрические и иммуногистохимические исследования были проведены с использованием современных методов на сертифицированном оборудовании и в программных средах.

Основные результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» за 2021–2026 годы. Основные положения диссертации были доложены, обсуждены и получили положительную оценку на грантовом конкурсе грант ФГБОУ ВО Ставропольского ГАУ в области науки и инноваций для молодых ученых (Ставрополь, 2023), Международной научно-практической конференции «Развитие агропромышленного комплекса в науке и образовании Российской Федерации в период цифровизации» (Екатеринбург, 2024), Международной конференции «Сельское хозяйство 4.0: инновации, устойчивость, точность» (Ставрополь; Самарканд, 2025)

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе и в научных и в научных исследованиях в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет», ФГБОУ ВО

«Иркутский государственный аграрный университет имени А. А. Ежевского», ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова», ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства - филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» лаборатория ветеринарной медицины, также в ветеринарных клиниках города Ставрополь: ФГБОУ ВО СтГАУ НДиЛВЦ, ИП Заиченко И. В. «Ветеринарный центр им. Пирогова», ИП Лукашенко В. С. «Вет Семья», ИП Шаламова Е. В. «Колибри».

Личный вклад соискателя.

Постановка научной задачи, формулирование цели и задач, организация и проведение исследований выполнены лично автором. В ходе работы проведены морфометрические, статистические, гистологические и иммуногистохимические методы исследования. Анализ опытных данных и описание полученных результатов. Доля участия соискателя при выполнении диссертации составляет 90 %.

Публикация.

По материалам диссертационной работы опубликованы 6 научных работ из которых: 3 научные статьи в журналах, включенных в перечень Российских рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ (Аграрный вестник Северного Кавказа «К2», Известия Оренбургского государственного аграрного университета «К2», Иппология и ветеринария «К3»), 1 научная статья, опубликованная в издании индексируемом в международной базе данных Scopus (Lecture notes in networks and systems «Q4»), 1 научная статья

из сборника материалов к международной научно-практической конференции «Развитие агропромышленного комплекса в науке и образовании Российской Федерации в период цифровизации» 18-21 сентября 2024 г., 1 методические рекомендации, рекомендованные научно-методическим советом ФУМО 36.00.00 Ветеринария и зоотехния ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина» (протокол № 77 от 10 июня 2025г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (пп. 1, 2, 3, 4, 8).

Объем и структура работы.

Диссертационная работа включает в себя введение и такие главы как: обзор литературы, материалы и методы, собственные исследования, заключение и выводы, практические предложения, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы, и библиографический список.

Данная работа изложена на 102 страницах машинного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения и списка литературы. Работа иллюстрирована 6 таблицами и 29 рисунками. Список литературы содержит 121 источников, в том числе 45 зарубежных.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕЧЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ.

Экспериментальные исследования на животных необходимы для расширения медико-биологических и ветеринарных знаний, выявления заболеваний и потенциальных методов их лечения, так как исследования имеют решающее прогностическое значение в оценке безопасности и эффективности этих методов. Они служат фундаментальным инструментом научного познания, позволяя воспроизводить и изучать патологические процессы в условиях, максимально приближённых к реальным, но при этом контролируемых и стандартизированных (Федорова А. О. и соавт., 2025; Тайгузин Р. Ш. и соавт., 2025; Каримов Д. О. и соавт., 2025).

Для исследований, как правило, выбирают лабораторных животных, таких как, крысы, мыши, морские свинки, кролики, а также некоторых крупных млекопитающих - приматов, свиней, собак; в единичных случаях кошек, а также рыб (семейство форелевые) и птиц. Выбор модели лабораторных животных, как правило, основан на схожести заболеваний человека в контексте патофизиологии фенотипических и гистопатологических особенностей, что позволяет максимально точно воспроизводить и изучать механизмы развития патологий, тестировать терапевтические подходы и прогнозировать их эффективность и безопасность для человека (Vdoviaková K. et al., 2016, Дроздова Л. И. и соавт., 2021; Михайлов Е. В. и соавт., 2021; Журов Д. О., 2021; Baquerre C. et al., 2021; Яковлева Е. Г. и соавт., 2022; Насыров С. Н. и соавт., 2022; Дроздова Л. И. и соавт., 2022; Шкуратова И. А. и соавт., 2023; Ivanidi M. et al., 2025; Бачинская В. М. и соавт., 2025; Федорова А. О. и соавт., 2025; Тайгузин Р. Ш. и соавт., 2025; Каримов Д. О. и соавт., 2025; Прозоровский И. Е. и соавт., 2025; Черезова А. В. и соавт., 2026).

Свиньи часто рассматриваются в качестве возможной альтернативы донора органов при ксенотрансплантации, так как их метаболический путь

близок по углеводному обмену и липидогенезу, а также локализацией жировых отложений в периферических тканях вокруг печени. Хотя форма печени человека и свиньи сильно различается, однако, печень свиньи имеет схожую структуру сосудистой системы (Sänger C. et al., 2015; Анисимова К. А. и соавт., 2021; Baquerre C. et al., 2021).

Биоптаты печени у кошек являются моделью для создания трехмерных структур сфероидов-органоидов *in vitro* с целью имитации и воспроизведения некоторых ее физиологических функций (Vdoviaková K. et al., 2016; Baquerre C. et al., 2021).

Рыб, как лабораторную модель, используют для получения органоидов в рамках токсикологических скринингов (Кравченко А. С. И соавт., 2025).

У птиц исследуют липидный обмен и адаптацию их к изменениям окружающей среды, так как изменения в печени пернатых делает ее важной тканью для изучения, поскольку она, в отличие от других видов, является основным органом, участвующим в синтезе липидов (Головченко В. В. и соавт., 2022; Ivanidi M. et al., 2025; Колина Ю. А. и соавт., 2025).

Согласно исследованиям Гайдай Е. А. с соавт. (2019), около 90% генетического аппарата крыс схож с таковым человека. Данные грызуны очень чувствительны и довольно устойчивы к различным заболеваниям. У них быстротечный жизненный цикл. В природе взрослые особи серой крысы в среднем живут 1,5–2 года, а черной доживают до 1 года, в то время как лабораторные серые и черные крысы, при хорошем содержании, проживают значительно долго – 3–4 года. Они экономически выгодны, отсутствуют признаки спонтанной агрессии. В связи с небольшими размерами удобны в проведении различных манипуляций, так как самцы крыс в среднем весят 450–680 граммов, а самки – 340–450 граммов. Имеют высокий репродуктивный потенциал с большим приплодом. Серые крысы в отапливаемых помещениях могут размножаться круглый год, однако черные не более 5 раз. Количество детёнышей у серых крыс в среднем составляет от 8 до 10, а у черных от 2 до 11 (Ельчанинов А. В. и соавт., 2012;

Кондрашевская М. В. и соавт., 2022; Иваниди М. С. И соавт., 2024; Maldonado-Rengel et al., 2024; Бобрышева А. А. и соавт., 2025; Мужиченко М. В. и соавт., 2025).

В мире регистрируется около 70 видов крыс, однако в России встречаются только 2: серая, или пасюк, (*Rattus norvegicus* Berk) и черная (*Rattus rattus* L.) (Гамбарян П. П. и соавт., 1955).

В настоящее время крысы являются удобными в моделировании опухолей различной этиологии, установления степени токсичности лекарственных препаратов, изучении гормональных и витаминных препаратов, когнитивных процессов. Многодолевая структура печени грызунов позволяет хирургическим путем удалять её на 2/3 у крыс, то есть - левой латеральной, правой латеральной, правой медиальной и хвостатой. Восстановление массы печени завершается в течение 14 дней после операции, с восстановлением количества клеточного пула после резекции. Таким образом, гепатоциты представляют собой идеальную модель для изучения связи размера органа с количеством размера клеток (Марковец Н. И. и соавт., 2016; Хакимов А. Р. И соавт., 2025; Миронова О. А. и соавт., 2025; Жамбулов М. М. и соавт., 2025).

Одними из самых распространенных лабораторных моделей являются одомашненные и инбредные штаммы крыс (*Rattus norvegicus*), которые относятся к роду грызунов (*Rattus*) семейству мышинные (*Muridae*) и произошли от грызунов подотряда белкообразных (Гамбарян П. П. и соавт., 1955).

Согласно отчетным данным и анализу о использовании лабораторных моделей в научных исследованиях, в 2017 году в странах — членах Европейского союза было использовано 7 миллионов крыс, в Канаде — 1,5 миллиона, а в странах южной Америки, за период с января 2015 года по октябрь 2021 года на основе данных, полученных от Национального института прозрачности, доступа к информации и защиты персональных данных (INAI), в научных и образовательных целях было использовано

5437263 животных. Согласно статистическому отчёту о животных, опубликованному в 2023 году, в Англии крысы были наиболее часто используемым видом грызунов, и в 2022 году они участвовали в 71% всех экспериментальных процедур. По данным Patricia F. et al. (2024), крысы в основном используются для проведения исследований заболеваний желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы (Patricia F., et al., 2024).

Для лабораторных исследований в России в качестве животных моделей наиболее часто используют альбиносов серую, или пасюк (*Rattus norvegicus* Berk) и черную (*Rattus rattus* L.) (Беляков В. И. и соавт., 2021).

1.2. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ.

Существует классическое представление о печени, как о пищеварительном агенте организма. Однако, если рассматривать данную железу в качестве химического завода, то можно прийти к выводу о том, что, благодаря своему сложному клеточному составу, орган играет ключевую роль во многих биохимических и физиологических процессах (Trefts E. et al., 2017; Zhang W. et al., 2023).

Печень является главным центральным регулятором метаболизма и детоксикации, обладает эндокринными и экзокринными свойствами. Эндокринные функции включают секрецию нескольких гормонов и факторов: фактор роста фибробластов, сигнализация Wnt, инсулиноподобных факторов роста, ангиотензиногена и тромбопоэтина. Экзокринная функция заключается в синтезе желчи. Печень также необходима для хранения гликогена, детоксикации лекарств, контроля метаболизма, регуляции синтеза и транспорта холестерина, метаболизма мочевины и секреции широкого спектра белков плазмы, включая альбумин, составляющими 85–90% объема циркулирующих белков, а также аполипопротеины, регулирует уровень циркулирующего железа. В связи с тем, что печень является важным регуляторным органом протекающих физиологических процессов в организме, ее патологии приводят к высоким показателям заболеваний и смертности не только среди людей, но и у животных (Si-Tayeb K. et al., 2010; Джадранов Е. С. и соавт., 2015; Лебедева Е. И. и соавт., 2015; Лебедева Е. И. и соавт., 2021; Чуйкин О. С. и соавт., 2022; Матвеев О. А. и соавт., 2023; Хуснутдинова Н. Ю. и соавт., 2025; Ярсолюк Н. С. И соавт., 2025).

По данным Si-Tayeb K. et al. (2010), масса печени составляет от 2% до 5% от массы тела. Согласно исследованиям López-Luque J. et al. (2018), масса печени поддерживается в очень узком диапазоне по отношению к общей

массе тела, или печеночный индекс, составляющий от 4 до 5%. Соотношение массы печени к массе тела должно всегда поддерживаться на уровне 100% от того, что необходимо для гомеостаза организма, поэтому степень роста всегда контролируется. Таким образом, потеря или увеличение массы печени компенсируется за счет пролиферации или апоптоза клеток для восстановления данного соотношения после удаления этиологического фактора. Это соотношение называется «гепатостатическим» и играет важное значение для гомеостаза печени и выживания организма. Оно проходит по последовательным и перекрывающимся этапам: иницирующей или «фазой прайминга», переводящей гепатоциты в состояние репликативной компетентности; "фаза пролиферации/прогрессирования" с расширением всей популяции гепатоцитов; и "фаза терминации", когда пролиферация клеток подавляется, чтобы прекратить все процессы в определенной точке (Si-Tayeb K. et al., 2010; Avila M.A. et al., 2015, López-Luque J. et al., 2018; Тельпуховская Е. А. и соавт., 2026).

По данным Miyaoka Y. et al. (2012), гепатоциты подвергаются одному или двум циклам клеточного деления после удаления 70% ее массы с увеличением деления в 1,6 раза. Данный механизм достигается вследствие многодольчатости её структурной организации. 30% восстановления органа достигается исключительно за счет гипертрофии без деления клеток, после чего начинается пролиферация гепатоцитов

Микроскопически структура печени, в отличие от большинства органов, имеет однородный ландшафт расположения гепатоцитов, периодически инфильтрированных сосудистой тканью и желчными протоками, что имеет решающее значение для ее нормальной функциональной работы. Основной архитектурной единицей печени является ее долька, состоящая из пластинок гепатоцитов, выстланных синусоидальными капиллярами, которые расходятся к центральной эфферентной вене. Дольки печени имеют шестиугольную форму, каждый из шести углов разделен наличием портальной триады сосудов, состоящей из

воротной вены, желчного протока и печеночной артерии. Воротная вена и печеночная артерия снабжают дольку кровью, которая проходит через сеть синусоидальных капилляров, впадая в центральную вену (Ельчанинов А. В. и соавт., 2011; Милюков В. Е., 2017).

Согласно данным Si-Tayeb K. et al. (2010), гепатоциты являются основным типом паренхиматозных клеток печени и составляют 78% объема печени. Они функционируют совместно с холангиоцитами (билиарными эпителиальными клетками), эндотелиальными клетками, синусоидальными эндотелиальными клетками, резидентными макрофагами печени, перисинусоидальными липоцитами и звездчатыми макрофагоцитами. Однако, Miyaoka Y. et al. (2012) утверждает, что зрелые гепатоциты составляют около 80% от массы печени и около 70% от всех клеток печени. Они обладают экстраординарной способностью к регенерации за счет активной пролиферации печени в условиях гомеостаза и в ответ на повреждение, согласно базовой архитектурной единице или дольке (Si-Tayeb K. et al., 2010; Miyaoka Y. et al., 2012; Лемешенко В. В. и соавт., 2021; Плеханов А. Н. и соавт., 2021; Манаков А. М. и соавт., 2024; Синдирева А. В., 2024).

Гепатоциты — это производные дефинитивные энтодермы, поэтому являются эпителиальными клетками, с поляризованным строением. У млекопитающих расположены в виде тяжей, толщиной в одну клетку, размером, обычно, не менее 6 мкм. Их базальная поверхность обращена к фенестрированным синусоидальным эндотелиальным клеткам; размер фенестр составляет от 50 до 280 нм, что облегчает перенос эндокринных гормонов из гепатоцитов в кровоток, а также имеет решающее значение для обмена белками между плазмой и клетками печени. Плотные соединения, образующиеся между соседними гепатоцитами, образуют каналцы, окружающие каждую клетку, что необходимо для захвата желчных кислот и их солей, которые транспортируются по апикальной поверхности гепатоцита. Желчь, собираемая каналцами, переносится в желчные протоки в пределах

портальной триады и впоследствии транспортируется в желчный пузырь. Сложное расположение между гепатоцитами с капиллярами и холангиоцитами лежит в основе как эндокринных, так и экзокринных функций печени. Таким образом, в печени расположение клеток формирует ее специфическую трехмерную архитектуру, которая необходима для выполнения функций (Манушарова Р. А. и соавт., 2009; Si-Tayeb K. et al., 2010; Miyaoka Y. et al., 2012; Клюка Т. В. и соавт., 2015; Честнова А. Ю., 2016; Попова Т. Н. и соавт., 2016; Бугаёва Л. И. и соавт., 2018; Czub M. P. et al., 2019; Немец Е. А. и соавт., 2021; Фоминых Ю. А. и соавт., 2022; Чуйкин О. С. и соавт., 2022; Демяшкин Г. А. и соавт., 2023; Лебедева Е. И. и соавт., 2023; Баранова Н. В. И соавт., 2025).

Si-Tayeb K. et al. (2010) установили, что внутрипеченочные холангиоциты происходят из перипортальных гепатобластов через сигналы NOTCH, которые способствуют их дифференцировке в билиарные клетки с ограничением в гепатоциты.

Кроме паренхимы, стромальный компартмент печени играет важную роль в контроле ее различных аспектов развития и функции. Популяция стромальных клеток в основном включает печеночные синусоидальные эндотелиальные клетки, перисинусоидальные липоциты и звездчатые макрофагоциты. Эндотелиальные клетки сосудов способствуют пролиферации гепатоцитов с нарастанием массы паренхимы печени. Ангиогенез и васкулогенез формируют сложные сосудистые сети, определяя основу функции печени, так как она находится в контакте с двумя основными венозными системами, развивающимися в периоде эмбриогенеза, в сравнении с печеночной артерией. Воротная вена служит основной афферентной венозной системой, а поддольковые вены и каудальная полая вена - эфферентной. Печеночная артерия, впоследствии, формируется вдоль внутрипеченочной воротной вены, постепенно разрастаясь в паренхиме печени. Синусоиды состоят из печеночных синусоидальных эндотелиальных клеток и перисинусоидальных липоцитов, образуют сложное трехмерное

сплетение, по которому кровь транспортируется по долям печени. Синусоидальные эндотелиальные клетки являются высокоспециализированными, так как переносят растворенные вещества между сывороткой крови и гепатоцитами, а также выводят растворимые макромолекулы. Кроме того, имеют множество кавеол, которые расположены в виде кластеров и способствуют переносу инсулиноподобных факторов роста, ангиотензиногена и тромбopoэтина между синусоидальным просветом и поверхностью клеток (Si-Tayeb K. et al., 2010; Казакова И. А., 2014; Клюка Т. В. и соавт., 2015; Попова Т. Н. и соавт., 2016; Немец Е. А. и соавт., 2021; Фоминых Ю. А. и соавт., 2022; Честнова А. Ю., 2016; Чуйкин О. С. И соавт., 2022; Демяшкин Г. А. и соавт., 2023; Лебедева Е. И. и соавт., 2023; Баранова Н. В. И соавт., 2025).

По данным Гончарова Н. В. и соавт. (2020), синусоидальные эндотелиальные клетки имеют некоторое сходство с лимфатическими эндотелиальными клетками, включая экспрессию рецептора гиалуронана эндотелия лимфатических сосудов -1 (LYVE-1). Кроме того, они экспрессируют VAP1, Stabiline 1 и 2, L-SIGN и Reelin, имеют низкую экспрессию PECAM (CD31) и фактора Виллебранда, и не экспрессируют трансмембранный сиаломуцин 1 типа (CD34), который, обычно, обнаруживается в классических эндотелиальных клетках (Lalor P. F. et al., 2007; Nonaka et al., 2007; Гончарова Н. В. и соавт, 2020).

Согласно Si-Tayeb K. et al. (2010), эндотелиальные клетки экспрессируют сигнал Wnt, влияющий на их пролиферацию и дифференцировку, а также влияют на пролиферацию гепатоцитов, усиливают пролиферацию гемопоэтических клеток-предшественников, через данный сигнальный путь.

Перисинусоидальные липоциты и звездчатые макрофагоциты локализованы в перисинусоидальном пространстве между базолатеральной поверхностью гепатоцитов и адлюминальной поверхностью синусоидальных эндотелиальных клеток. Клетки накапливают витамин А в виде капель в

цитоплазме в количестве 45–72%, модулируют печеночную микроциркуляцию в ответ на передачу сигналов эндотелия, а также влияют на функцию и регенерацию печени. Также могут дифференцироваться в миофибробласты, через трансдифференцировку в мезотелиальные клетки и дают начало как эндотелиальным, так и звездчатым клеткам печени. Клетки накапливают липидные капли за счет ретинола, что является характерным для перисинусоидальных липоцитов печени (Галченко Л. И. и соавт., 2011; Kawada N. et al., 2015).

Перисинусоидальные липоциты составляют 10% от общего количества клеток печени. Способны дифференцироваться в миофибробласты и функционируют как резидентные антиген-презентирующие клетки. Кроме того, вырабатывают компоненты внеклеточного матрикса, такие как коллаген IV типа, и являются основными участниками процесса развития фиброза при хронических заболеваниях печени (Kruitwagen H. S. et al., 2014).

Однако, по данным авторов Ishikawa T. et al. (2012), перисинусоидальные липоциты являются основным источником секреции гепатоцитарного фактора роста, стимулирующего пролиферацию гепатоцитов в регенерации печени. Они регулируют дифференцировку гепатоцитов посредством растворимых и мембранных факторов, а также компонентами внеклеточного матрикса.

По данным Pellicoro et al. (2014), перисинусоидальные липоциты печени имеют сократительную способность в следствии воздействий эндотелина-1, ангиотензина-II.

Звездчатые макрофагоциты представляют собой резидентные макрофаги на поверхности синусоидальных эндотелиальных клеток печени. Они составляют 15% популяции клеток печени и 50% резидентных макрофагов в организме, секретируют TNF-а и IL-6, тем самым усиливая регенерацию печени, при ее патологии (Bedossa P. et al., 2003; Si-Tayeb K. et al., 2010).

Кроме клеточного пула, составляющего как паренхиматозный, так и стромальный клеточный компонент печени, главную роль в её физиологической работе играет внеклеточный матрикс, который занимает менее 3% площади среза печени. Он является совокупностью различных макромолекул, составляющих каркас печени, кроме капсулы Глиссона, ограничен портальными трактами, стенками синусоидов и центральными венами, и является частью границы между кровотоком и паренхимой (Bedossa P. et al., 2003; Si-Tayeb K. et al., 2010; Протасова Г. А. и соавт., 2020).

Наиболее встречающимися белками внеклеточного матрикса являются коллагены I, III, IV, V типов, а также недавно описанный коллаген XVIII, предшественник эндостатина. Каждый изотип отличается локализацией и физической функцией в печени. Коллаген I, III и V типов являются основными компонентами фибриллярного коллагена, содержатся в портальном тракте и стенках центральных вен. Коллаген IV типа в сочетании с ламинином и энтактином–нидогеном участвует в формировании матрикса с низкой плотностью, имеющего структуру базальной мембраны, локализованной вдоль стенок синусоидов. Низкая плотность мембраны, обеспечивает легкую диффузию между кровью и гепатоцитами, а также является нишей для поддержания дифференцировки не только гепатоцитов, но и эндотелиальных клеток печени. Важными компонентами внеклеточного матрикса печени являются гликопротеины: ламинин, фибронектин, тенасцин, нидоген и SPARC 2, а также протеогликаны, включающие: гепаран, дерматан, хондроитинсульфат, перлекан, гиалуроновую кислоту, бигликан и декорин (Bedossa P. et al., 2003; Si-Tayeb K. et al., 2010; Хмель А. О. и соавт., 2025; Репина Э. Ф. и соавт., 2026).

Основная функция внеклеточного матрикса — обеспечение механической целостности и прочности печени, в связи с его биологической паракринной особенностью участвовать в процессах пролиферации,

миграции, дифференцировки и экспрессии генов (Bedossa P. et al., 2003; Si-Tayeb K. et al., 2010).

Разница в размерах органов у разных млекопитающих обусловлена, в основном, количеством клеток, а не их размером. Существует несколько примеров исследований, демонстрирующих связь между размером органа и количеством, и размером клеток, из которых он состоит. Однако, вопросу о том, как размеры и количество клеток влияют на размер органа в процессе развития и регенерации уделяется недостаточно внимания. Гепатоциты представляют собой идеальную модель для изучения связи размера органа с количеством и размерами клеток (Baquerre C. et al., 2021).

Согласно данным Stanger B. Z. (2015) в последнее время возникла парадигма, которая утверждает, что печень использует два различных механизма регенерации – посредством репликации существующих клеток или дифференцировки специализированного пула стволовых/клеток-предшественников, различающихся по своему репликативному потенциалу.

Основными факторами, по мнению Kopp J. L. et al. (2016), участвующими в регенеративном процессе печени являются: фактор роста гепатоцитов (HGF), инсулин, трансформирующий фактор роста-альфа (TGFa), эпидермальный фактор роста (EGF), интерлейкин-6 (IL-6) и норадреналин. Некоторые из этих факторов и их рецепторов могут играть избыточную роль в зависимости от вида млекопитающих. Хотя участие тканевых стволовых клеток в этом регенеративном процессе неоспоримо, установлены индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, источник гепатоцитов (Miyajima A. et al., 2014; Kopp J. L. et al., 2016; Lopez-Luque J. et al., 2018; Baquerre C. et al., 2021).

1.2.1. ОСОБЕННОСТИ МЕЗОТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА И ТРАНСДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ГЕПАТОЦИТОВ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ.

Wang B. et al. (2015) разработали методы мечения гепатоцитов в различных частях печеночной долики, чтобы проследить за их способностью к обновлению. Согласно данным, доляка представляет собой основную функциональную единицу печени и может быть разделена на 3 «зоны». Кровь поступает в печень через порталные тракты, расположенные в «зоне I», затем протекает между синусоидами гепатоцитов через «зоны II и III» до выхода из печени по центральным венам. Данное расположение облегчает обмен малыми молекулами между кровотоком и гепатоцитами, поддерживая роль печени в детоксикации, регуляции метаболизма и синтеза белков плазмы.

Согласно Nykonenko A. et al. (2017), существует «метаболическая зональность» долек печени по градиенту кислорода, питательных веществ и продуктов метаболизма, поступающих в гепатоциты по синусоидам, что приводит к разделению функций в зависимости от их локализации в дольке. В каждой зоне находятся гепатоциты с разной экспрессией метаболических генов и функциональностью. Эти «метаболические зоны» имеют определенную область и представляют собой гибкий спектр. По данным авторов, гепатоциты зоны II могут приобретать функциональные свойства гепатоцитов из зоны I в случае повреждения или утраты функции. Отличительной особенностью печени является то, что ее разнообразные клеточные популяции взаимодействуют с анатомической организацией для поддержания функциональности органа.

В среднем, гепатоциты, в период пролиферации, увеличивается на 2 мкм в день. Согласно исследованиям Zajicek G. et al. (1990), печеночная доляка имеет I, II, III зоны. В зонах I и II ядро гепатоцитов увеличивается и становится полиплоидным, однако в зоне III тенденция меняется на

противоположную в связи с тем, что в зоне I ежедневно накапливается 0,005 единиц оптической плотности ДНК, а в зоне III оптической плотности ежедневно - 0,24 единиц. Авторы предполагают, что в зоне III ДНК физиологически покидает не поврежденную клетку, а накопление ДНК и полиплоидию рассматривают как одну из форм амплификации генов, которые обращаются вспять и ДНК становится «дамплифицированной» и его избыток покидает клетку (Zajicek G. et al., 1990; Kohno Y. et al., 1991).

Valtolina C. et al. (2019) описывают «гипотезу движущейся печени», где гепатоциты, происходящие из перипортальной области, мигрируют вдоль центральной вены к печеночной вене. Согласно их данным, в дольке печени около центральной вены находится популяция пролиферирующих и самообновляющихся клеток, которые способны замещать все гепатоциты в дольке печени в процессе гомеостатического обновления.

Wang B. et al. (2015) при наблюдении о динамики клеточного движения печени, во-первых, обнаружили, что удвоение гепатоцитов происходит в течение 14 дней в радиальном направлении от центральной вены, с распространением дочерних клеток глубже в дольку, но не поперек нее, с выработкой соответствующих дольковых маркеров, и подтвердили гипотезу Valtolina C. et al. (2019) «движущейся печени». Во-вторых, они установили, что меченые гепатоциты в течение недели увеличивают процент массы печени на 5%, а через год на 30%. В-третьих, авторы выявили, что эндотелиальные клетки центральной вены дольки печени продуцируют высокие уровни растворимых лигандов Wnt, Wnt2, Wnt9b, необходимых для усиленных пролифераций гепатоцитов, а также создают определенную нишу реплицирующихся перипортальных клеток. Таким образом, популяция перипортальных гепатоцитов является востребованной для стволовых клеток печени, которые обладают не только самообновлением, но и способностью к возникновению другой линии – перипортальных гепатоцитов, обладающих способностью к трансдифференцировке (Wang B. et al., 2015; Valtolina C. et al., 2019).

Согласно исследованиям, Alison M. R. et al., (2016) и Huch M., (2015), при снижении способности гепатоцитов восстанавливать массу и функцию печени, гепатоцитарные клетки-предшественники активируются, так как они являются резервной популяцией взрослых стволовых клеток/клеток-предшественников, которые обнаружены в печени грызунов, людей, собак и кошек. Они могут находиться в разных состояниях: покоя, пролиферации и дифференцировки, что отражается на экспрессии маркеров (Kruitwagen H. S. et al., 2014; Huch M., 2015; Alison M. R. et al., 2016; Колесников М. П. и соавт., 2025).

Ijzer J. et al. (2009) впервые описали гепатоцитарные клетки-предшественники у кошек. Авторы их описывают как небольшие, расположенные перипортально клетки, имеющие положительную реакцию на цитокератин 7. Причем, данные клетки авторы выявили при различных заболеваниях печени кошек (острый гепатит, нейтрофильный и лимфоцитарный холангит и липидоз) и охарактеризовали их гистологические и фенотипические особенности. Однако, простое описание протоковой реакции не предполагает дальнейшей активации и совместной локализации НРС и их ниши (Ijzer J. et al., 2009; Valtolina C. et al., 2019).

Согласно исследованиям Kruitwagen H. S. et al. (2014), гепатоцитарные клетки-предшественники являются клинически значимыми, так как у собак, при определенных заболеваниях печени, клетки участвуют в модуляции ответа на молекулярные и клеточные реакции, что говорит об их терапевтическом потенциале, заполняя поврежденную «нишу» паренхимы печени.

Ijzer J. et al. (2010) на двухмерном слайде клетки-предшественники НРС описывают как изолированные клетки, расположенные в перипортальной зоне, размером обычно менее 6 мкм и промежуточные клетки диаметром >6мкм, но меньше, чем у зрелого гепатоцита. Данный клеточный пул составляет от 5 % до 8 % всех клеток печени, способен накапливать витамин А, синтезировать внеклеточные матрицы (ВКМ) и

матрикс-деградирующие металлопротеиназы, а также регулирует синусоидальный кровоток.

На моделях грызунов и собак было установлено, что важными клеточными компонентами гепатоцитарных клеток-предшественников являются: перисинусоидальные липоциты печени, их дифференцированные аналоги, альфа-гладкомышечные миофибробласты, позитивные по альфа-гладкомышечному актину (α -SMA) и макрофаги/звездчатые макрофагоциты с ламинином. Ламинин важен для пролиферации НРС и поддержания фенотипа, так как только прогениторные клетки покидают нишу, окружённую ламинином, который дифференцируется в гепатоциты (Ijzer J. et al., 2010; Калинина Н. И. и соавт., 2011; Kruitwagen H. S. et al., 2014; Geisler C. E. et al., 2016; Valtolina C. et al., 2019).

Основными продуцентами компонентов внеклеточного матрикса в печени, отвечающими за отложение ламинина, являются миофибробласты, которые дифференцируются из интерстициальных фибробластов и перицитов, а также незрелых клеток мезенхимальной природы путем эпителиально-мезенхимального перехода (EMT) гепатоцитов. Однако имеется предположение, что активированные гепатоциты вырабатывают собственный слой ламинина, чтобы поддерживать пролиферацию и недифференцированный фенотип (Valtolina C. et al., 2019).

Установлено, что у кошек также имеется тесная анатомическая связь между гепатоцитами и ламинином (Valtolina C. et al., 2019).

Wang B. et al. (2015) на мышах установили, что новые гепатоциты в процессе гомеостатического обновления возникают в результате репликации существующих. Однако, клетки печени неоднородны, и их возраст и функции сильно различаются в разных долях печени. Кроме того, зрелые гепатоциты, как правило, полиплоидны (от 4N до 32N), что снижает их способность к репликации, ограничивая возможный вклад этих клеток в долгосрочный гомеостаз печени.

Во многих тканях взрослых млекопитающих вырабатывается специализированная микросреда, или «ниша стволовых клеток». Эти клетки секретируют белок Wnt, имеющий сигналы ближнего действия. Они активируют транскрипцию через внутриклеточный белок β -катенин и фактор Tbx, ген Axin2, который является маркером стволовых клеток взрослых млекопитающих. При отслеживании происхождения клеток, несущих ген Axin2, чувствительных к Wnt, было установлено, что стволовые клетки окружают центральные вены в печеночных дольках и поддерживаются эндотелиальными клетками, продуцирующими Wnt. Эти клетки являются диплоидными, самообновляются в течение всей жизни и постепенно дают начало зрелым полиплоидным гепатоцитам, которые заполняют всю дольку печени. Во время клеточного цикла уровень передачи сигналов Wnt достигает пика в фазе G2/M. Если Wnt регулируют экспрессию генов, контролирующих митоз, таких как фосфатаза CDC25, они могут направлять клетки к митозу и сохранению диплоидии, а не к немитотической репликации ДНК и полиплоидии (Clevers H. et al., 2014; Miyajima A. et al., 2014; Yanger K. et al., 2014; Wang B. et al., 2015).

Wang B. et al. (2015) также утверждают, что в отличие от большинства гепатоцитов, которые являются полиплоидными и содержат 4N или 8N и комплимент ДНК, несущими Axin2⁺, являются диплоидными и объясняют их повышенную реплицирующую активность периферических гепатоцитов. Транскрипция сигнального пути Wnt в клетках сохраняется в течение 1 года жизни, так как сосудистая ниша синусоидов также продуцирует лиганды Wnt эндотелием.

Однако, другие исследователи, Duncan A. W. et al. (2010), утверждают, что диплоидные и полиплоидные гепатоциты имеют эквивалентные скорости роста в естественных условиях.

Broutier L. et al. (2016) пишут, что во время регенерации печени по меньшей мере 84% гепатоцитов вступают в S-фазу, однако, это не обязательно означает деление клетки. По его мнению, в регенерированной

печени увеличивается плоидности гепатоцитов, а значит за S-фазой не всегда следует нормальная M-фаза. Кроме того, во взрослой печени много двуядерных гепатоцитов и их количество уменьшается в процессе регенерации. Эти наблюдения позволили авторам предположить, что цикл деления гепатоцитов в регенерирующей печени может протекать не так, как в норме.

По данным López-Luque J. et al. (2018), гепатоциты, находящиеся в состоянии пролиферативного покоя (G-фаза), могут быстро и синхронно включаться в клеточный цикл, проходить от одного до двух раундов репликации, прежде чем вернуться в состояние покоя. Печень постоянно регулирует системные уровни энергии и митогенные сигналы, одновременно удовлетворяя свои собственные потребности в синтезе нуклеотидов и белка, необходимых для деления клеток.

Кроме гомеостатического обновления печени, существует гипотеза о наличии в печени гибридных перипортальных гепатоцитов (HypHp), составляющих 5 % от всех клеток с уникальным транскриптомом. Они расположены в непосредственной близости от печеночных балок, экспрессируют фактор транскрипции HNF4a с низким уровнем Sox9 и медленным циклированием. Генетическое отслеживание показало, что гибридные гепатоциты образовали 2/3 гепатоцитов у мышей Sox9– CreERT; R26RYFP в течение 12 недель после лечения тамоксифеном. Они распространились от портальных трактов до печёночных вен, где экспрессировали GS с последующей трансдифференцировкой гибридных гепатоцитов в клетки протоков с экспрессией Sox9, CK19 и остеопонтина (OPN). Кроме того, гибридные гепатоциты сравнивали с обычными гепатоцитами по их способности восстанавливать популяцию мышей с дефицитом фумарилацетоацетатгидролазы (Fah) — модели наследственной тирозинемии. Гибридные гепатоциты не только образовывали Fah⁺ колонии, которые были в два раза больше колоний, образованных обычными

гепатоцитами, но и значительно повышали выживаемость животных (Duncan A. W. et al., 2010; Wang B. et al., 2015).

1.3. БИОСИНТЕТИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРНЫХ БЕЛКОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ И СИНТЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ

Нуклеолин/NCL

NCL был впервые описан Orrick L. R. и соавторами в 1973 году и первоначально назывался C23 — такое обозначение возникло из-за его специфической подвижности при разделении на двумерном геле (Prestayko et al., 1974). Данный фосфопротеин является одним из наиболее распространенных белков ядрышек, который в основном локализуется в плотных фибриллярных и зернистых областях. Его присутствие в этих зонах напрямую связано с функциями в процессинге пре-рРНК и сборке прерибосомных частиц. Затем, этот же белок был описан и выделен из клеток яичников китайского хомячка (Bugler et al., 1982), а впоследствии — из ряда других эукариотических клеток, что подтвердило его эволюционную консервативность и фундаментальную роль в клеточных процессах. Нуклеолин встречается в самых разных — от дрожжей и растений до млекопитающих, демонстрируя высокую степень структурного и функционального сходства между видами. У высших эукариот он составляет более 90 % клеточного пула ядрышковых белков, что подчёркивает его доминирующую роль в организации и функционировании ядрышка. Согласно данным Jia W. et al. (2017), его количество составляет до 10% от общего количества ядрышкового белка (L. R. Orrick et al., 1973; Bugler et al., 1982; Ginisty H. et al., 1999; Hernandez-Verdun D. et al., 2010; Guo X. et al., 2014; J. Y. Xu et al., 2016; Jia W. et al., 2017; Скрипкин В. С., 2022; Митенко В. В. и соавт, 2022; Ivanidi M. et al., 2026).

По данным Srivastava M. et al. (1990), гены NCL были обнаружены у различных видов и обладают высокой степенью консервативности. Большинство клеток животных содержат по одному гену NCL на гаплоидный геном, в то время как тетраплоидные виды содержат до трех генов NCL.

Многофункциональный шаперонный фосфопротеин нуклеолин повсеместно распределен в различных компартментах эукариотических клеток, таких как: ядрышко, нуклеоплазма, цитоплазма и плазмолемма и является аргирофильным белком ядрышковых организаторов (Ag-ОЯОР-белок) массой 100–110 кДа, что связано с клонированием кДНК нуклеолина у млекопитающих. Его аргирофильное свойство позволяет количественно оценить содержание NCL. Ген нуклеолина человека состоит из 14 экзонов и 13 интронов, и расположен на хромосоме 2q12-qter. NCL млекопитающих состоит от 707 до 713 аминокислот, так как имеются различные последовательности у человека, крысы, мыши и курицы, а прогнозируемая молекулярная масса составляет приблизительно 77 кДа, что связано с его сильным фосфорилированием и метилированием (Ginisty H. et al., 1999; Chen S. C. et al., 2015; Hsu T.I. et al., 2015; Morfoisse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017; Ugrinova I. et al., 2018; Бобров И. П. и соавт, 2019).

Во время митоза нуклеолин присутствует на периферии метафазных хромосом (Medina et al., 1995), в ядрышковом остатке (NR) клеток CHO (Azum-Gelade et al., 1994) и в цитоплазматических ядрышковых очагах (NDF) (Dundr et al., 1997). В телофазе заменяется предъядрышковыми тельцами. В конце митоза собираются вокруг ядрышковых организаторов, образуя новые ядрышки. Изменение локализации нуклеолина в течение клеточного цикла является его изменением в фосфорилировании (Ochs R. et al., 1983; Ginisty H. et al., 1999; Durut N. et al., 2015).

Согласно биофизическим и биохимическим исследованиям, NCL состоит из трех основных структурных доменов: N-концевого домена, центрального домена и С-концевого домена. Будучи прикрепленным к рибосомам, NCL перемещается в цитоплазму вместе с компартментом. Белок играет ключевую роль в сборке рибосом и процессинге, и модификации прерибосомной РНК(пре-рРНК) (Srivastava M. et al., 1990; Райхлин Н. Т. И соавт., 2012; Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfoisse F. et al.,

2016; Jia W. et al., 2017; Лушникова А. А. и соавт., 2018; Митенко В. В., Дилекова О. В., 2022; Hernandez-Guzman J. et al., 2023).

N-концевой домен содержит кислые участки, богатые глутаминовой и аспарагиновой кислотами, которые контролируют деление клеток, что указывает на то, что он может функционировать во время клеточного цикла. Домен участвует в транскрипции рибосомной РНК (рРНК) и взаимодействует с компонентами комплекса обработки пре-рРНК и регулирует транскрипцию рДНК, взаимодействуя с хроматином и UTRs (Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfousse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017).

Центральный домен содержит четыре РНК, которые взаимодействуют со структурой стволовой петли рРНК и отвечает за специфические взаимодействия с РНК. Во время транскрипции пре-рРНК NCL действует как шаперон, помогая пре-рРНК правильно сворачиваться. Кроме того, этот домен участвует в упаковке РНК, контроле трансляции и стабильности матричной РНК (мРНК), служит компонентом пре-рибосом, а также изменяет субклеточную локализацию теломеразы, необходимой для ядрышковой локализации NCL (Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfousse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017).

C-концевой домен богат аргинином и глицином — такая аминокислотная композиция формирует так называемый RGG-бокс (аргинин-глицин-глицин-богатый домен), который играет ключевую роль в молекулярных взаимодействиях этого белка. Этот домен активно взаимодействует с нуклеиновыми кислотами, расположенными внутри большой рибосомальной РНК (рРНК), участвуя в стабилизации её третичной структуры и обеспечении правильного сворачивания, а также контактирует с белками, отвечающими за сборку рибосом и ядерный импорт рибосомных белков (Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfousse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017).

Его расположение вокруг центра фибриллярных волокон, и зернистых областях ядрышка связано с метаболизмом РНК и биогенезом рибосом, включая синтез рРНК, синтез пре-рРНК, процессинг рРНК, сборку и созревание рибосом. Он также вовлечен во многие аспекты клеточной биологии, такие как: подавление генов, старение, цитокинез, нуклеогенез, пролиферация и рост клеток (Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfousse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017).

NCL обладает антиапоптотическим свойством, участвует в трансляции р53, защищая клетки от апоптоза. При активации р53 NCL накапливается вокруг ядерного матрикса, что приводит к удлинению репликации ДНК в клетке. Несмотря на то, что NCL в основном локализован в ядрышке, авторами было продемонстрировано, что фосфопротеин появляется в цитоплазме при ряде физиологических и патологических состояний, его процент варьируется в зависимости от различных биологических процессов. Известно, что рибосомные белки синтезируются в цитоплазматическом компартменте и поступают в ядро, где они соединяются с рРНК, образуя прерибосомальные частицы. Таким образом, NCL необходим для транскрипции повторов рДНК, модификации и процессинга пре-рРНК и сборки пре-рибосомальных частиц. Непосредственно взаимодействуя с подмножеством рибосомальных белков и РНК через различные домены. NCL может играть непосредственную роль в сборке рибосомальных субъединиц, объединяя рибосомальные белки и РНК. NCL, также известен как челночный белок, постоянно мигрирует между ядром и цитоплазмой. Благодаря этому свойству, нуклеоцитоплазматическое перемещение NCL способствует ядрышково-цитоплазматическому транспорту рибосомных белков и субъединиц (Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfousse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017).

Кроме того, было обнаружено, что ламинин, являясь основным компонентом внеклеточного матрикса, также влияет на цитоплазматическую локализацию NCL. Клетки, покрытые ламинином, содержат белок внутри

ядра, в то время как клетки без ламинина - в цитоплазме. У крыс нуклеолин содержится преимущественно в цитоплазме эпителиальных клетках (Ginisty H. et al., 1999; Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfoisse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017).

NCL обнаруживается в гладких цитоплазматических везикулах ранних эндосомах, может связываться с актиновым цитоскелетом и мембранно-закрепленными белками, что необходимо для классического эндоцитарного пути. В процессе эндоцитоза NCL перераспределяется из мембраны в цитоплазму или даже в ядро. Некоторые модификации NCL могут также вызывать его накопление в плазмолемме, что необходимо для экспрессии поверхностного NCL в различных клетках. NCL, как многофункциональный белок, способен к самораскалыванию. Его рецепторные молекулы могут быть гликированы и содержат О-, N-гликаны, которые участвуют в регуляции обмена ионов кальция и в межклеточном метаболизме. Кроме того, молекулы нуклеолина взаимодействуют с лигандами лактоферина, эндостатина и цитокинами (Зенит-Журавлева Е. Г. и соавт., 2012; Райхлин Н. Т. и соавт. 2012; Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfoisse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017; Лушникова А. А. и соавт., 2018).

NCL не обладает ни гидрофобной последовательностью, ни последовательностью, нацеленной на плазматическую мембрану что, на первый взгляд, делает его локализацию на плазмолемме парадоксальной. Согласно классическим представлениям о внутриклеточном транспорте, белки, предназначенные для экспорта или встраивания в мембрану, содержат сигнальные пептиды или гидрофобные домены, обеспечивающие их направление к соответствующим компартментам. Впервые нуклеолин был идентифицирован как поверхностный белок (в том числе локализованный на плазмолемме) в 1990 году, что стало важным открытием, расширившим представления о функциях этого белка (Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfoisse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017).

По данным Chen S. C. et al. (2015) и Morfoisse F. et al. (2016), NCL мембраны служит связующим звеном для нескольких молекул, участвующих в дифференцировке клеток и адгезии. Его перемещения на плазматическую мембрану может происходить секреторным путем, с дальнейшим взаимодействием с тяжелой цепью не мышечного миозинового моторного белка на основе актина, с последующим участием в ряде сигнальных путей, связан с пролиферацией клеток, клеточным циклом и апоптозом. Таким образом, NCL действует как мост между поверхностью клетки и ядром (Chen S. C. et al., 2015; Hsu T. I. et al., 2015; Morfoisse F. et al., 2016; Jia W. et al., 2017).

Нуклеофозмин/NPM1/B23

Нуклеофозмин, также известный как B23, нуматрин и NO38, идентифицирован в 1974 году Olson M. O. et al., как нерибосомный ядрышковый фосфопротеин, который в больших количествах содержится в гранулированных областях ядрышка. Белок был выделен из клеток печени у человека, NPM1 высоко консервативен у позвоночных и широко распространён у разных видов. Его молекулярная масса составляет от 35 до 40 кДа, а изоэлектрическая точка — от 5,1 до 5. Ген B23 картирован на хромосоме 5 в локусе 5q35 и состоит из 12 экзонов размером от 58 до 358 пар оснований. У человека и крысы NPM1 существует как минимум в двух изоформах: NPM1 и NPM1.2 (B23.1 и B23.2), которые образуются из одного гена посредством альтернативного сплайсинга, локализуются в ядрышке и нуклеоплазме соответственно. Обе изоформы содержат идентичные последовательности в 5'-области и в большей части кодирующей области, но С-концевые 35 аминокислот NPM1 отсутствуют в NPM1.2 (Olson M. O. et al., 1974; Lim M. J., et al., 2006; Yung B. Y. et al., 2008; Понкратов Д. А. и соавт., 2019; Sekhar K. R. et al., 2023).

Нуклеофозмин является нуклеолярным Ag-ОЯОР-белком, относящимся к семейству нуклеоплазминов. NPM1 является важнейшим регулятором клеточного цикла и принимает участие в ранних и поздних

стадиях биогенеза рибосом, так как способен связывается с нуклеиновыми кислотами, в том числе ДНК, и выполняет функции шаперона, участвует в процессинге мРНК, дупликации centrosom, регуляции пролиферации и экспрессии p53, связывает РНК, взаимодействует с другими ядрышковыми белками, включая нуклеолин, ремодулирует хроматин, поддерживает стабильность генома, содержит сигнал ядерной локализации, в связи с тем что может перемещаться между ядром и цитоплазмой во время клеточного цикла (Lim M. J., et al., 2006; Liu M. et al., 2015; Vox J. K. et al., 2016; Коржевский Д.Э. и соавт., 2017; Brodská V. et al., 2019; Бобров И. П. и соавт., 2019; Xue X. et al., 2024).

В настоящее время установлено, что нуклеофозмин участвует в дупликации centrosom и действует как фактор лицензирования, предотвращая незапланированную дупликацию centrosom во время клеточного цикла. Этот многофункциональный ядрышковый белок играет критически важную роль в поддержании геномной стабильности, поскольку точное удвоение centrosom — необходимое условие правильного распределения хромосом при делении клетки (Lim M. J., et al., 2006; Vox J. K. et al., 2016).

Согласно данным Lim M. J. et al. (2006), во время митоза по мере перехода клеток в фазы S, G2 и M, экспрессия нуклеофозмина снижается, поскольку процессинг рРНК происходит в основном в фазах G1 и G1/S. В процессе разрушения ядрышка во время митоза, нуклеофозмин, при биогенезе рибосом, повышает их сходство с другими компонентами ядрышка, регулируя ядерный импорт белков, а также взаимодействуя с белками мишенями. Во время перехода клетки из фазы S в фазу G2, большая часть нуклеофозмина находится в ядрышке, так как отвечает за биогенез рибосом и клеточную пролиферацию. После разрушения ядерной мембраны связывается с митотическими centrosom, инициирует их дупликацию, обеспечивая правильное деление клеток. В дальнейшем связывается с недедуплицированными centrosom, что приводит к образованию

дополнительных centrosом с формированием полюсов веретена деления (Lim M. J., et al., 2006; Box J. K. et al., 2016).

Исследования Box J. K. et al. (2016) показали, что снижение уровня нуклеофозмина приводит к нестабильности генома, то есть неправильному расположению хромосом, микроядра, так как данный биомаркер имеет тесную связь с centrosомами в теле веретена деления, являясь белком-контролером дупликации centrosом. Таким образом, по мнению авторов, гибель эмбрионов на ранних стадиях развития связана с хромосомной нестабильностью, что зависит от снижения уровня NPM1.

В гепатоцитах печени белок B23 отвечает за контроль клеточного цикла, выполняя множество регуляторных функций, критически важных для поддержания нормальной жизнедеятельности клеток и обеспечения их адекватного ответа на внутренние и внешние сигналы. Взаимодействуя с транскрипционными факторами, нуклеофозмин регулирует синтез белков, необходимых для метаболизма, а также участвует в координации ключевых процессов, связанных с ростом, делением и дифференцировкой гепатоцитов (Ponti D., et al., 2015; Иваниди М. С. И соавт., 2025).

Фибрилларин/FBL

Фибрилларин открыт в 1985 году как белковая полоса с молекулярной массой 34 кДа и изоэлектрической точкой 8,5. Первоначально его идентифицировали как один из доминирующих компонентов ядрышковых структур, выделяющийся на двумерных гелевых электрофореграммах по характерной подвижности и зарядовым свойствам. В связи с тем, что он локализуется как в плотных фибриллярных компонентах, так и в фибриллярных центрах ядрышка, этот белок получил название «фибрилларин», отражающее его пространственное распределение внутри X.

Молекула фибрилларина человека, состоящая из 321 аминокислоты, включает два основных структурных домена: богатый глицином и аргинином, длиной примерно 1300 нуклеотидов, локализуется в ядрышковых фракциях (Zhang J. et al., 2020; Zhang X., et al., 2024).

FBL древний высококонсервативный домен, является регулятором ранних стадий биогенеза рибосом, регулирует расщепление рРНК и модулируют NOR на протяжении всего клеточного цикла. FBL активно экспрессируется в плюрипотентных эмбриональных стволовых клетках. Его повышенная экспрессия способствует пролиферации клеток. Фосфопротеин взаимодействует с белком NCL, что приводит к процессингу рРНК, кроме того, диффундирует в ядрышковом организаторе, способствуя направленному движению зарождающейся пре-рРНК и облегчая как ее процессинг пре-рРНК, так и формирование ядрышкового организатора (Zhang X., et al., 2024).

По данным авторов Zhang X. et al. (2024), белок FBL играет важную роль в модуляции клеточных стрессовых реакций и поддержании внутриклеточной стабильности. Нарушение биосинтеза рибосом на любом этапе может привести к ядрышковому стрессу, при котором ядрышковые белки и ядрышковая ДНК перемещаются на его периферию, что нарушает биосинтез рибосом. В ответ на данный процесс FBL формирует «ядрышковые колпачки» с целью восстановления целостности ядрышка, тем самым регулируя клеточный гомеостаз. То есть, в ответ на стресс, FBL перемещается из ядрышка в нуклеоплазму, где образует скопления, которые локализуются совместно с коилином, маркером цитоскелета. Затем он активизирует нуклеофозмин и вместе с ним перемещается из ядрышка в нуклеоплазму, что приводит к стабилизации уровня р53.

На ранних стадиях фазы G1 и при переходе из фазы G1 в фазу S, FBL преимущественно локализуется в ядрышке. Во время митоза FBL локализуется совместно с различными белками, такими как хромофильные белки, хромофильные ядрышковые белки и ядерный белок NPM1, а также с факторами процессинга РНК, образуя перихромосомный слой, который участвует в формировании структуры хромосом. Во время анафазы митоза ядрышко подвергается ресборке, и часть белка FBL локализуется в очагах, образованных ядрышком. Пренуклеарные тельца сливаются с первичными

ядрышками. Этот процесс происходит вокруг области нуклеолярного организатора. Таким образом, FBL является ранним индикатором новых формирующихся ядрышек. Кроме ядрышек, маркер может быть распределен по поверхности ядра, а также обнаружен в тельцах Кахаля, расположенных рядом с ядрышком (Loza-Muller Ll. et al., 2015; Kim Eu. et al., 2021; Li P. et al., 2022; Zhang X. et al., 2024).

По данным Bouffard S. et al., (2018) при дефиците белка FBL нарушается S-фаза митоза клеточного цикла, что приводит к дефектам морфогенеза, связанным с нарушением нейронной дифференцировки и массовым апоптозом, нарушением биогенеза и активностью рибосом (Bouffard S. et al., 2018; Zhang X., et al., 2024).

Ki-67/MKI67

Ki-67 — это ядерный белок, случайно обнаруженный в ходе селекции моноклональных антител в начале 1980-х годов. Несмотря на то что на протяжении десятилетий он использовался в контексте рака молочной железы в качестве предполагаемого прогностического, а в последнее время и предиктивного биомаркера, даже спустя столько времени нет единого мнения относительно достоверности иммуногистохимических анализов, используемых для оценки Ki-67. Учитывая возможное влияние различных применяемых методик и возможных искажающих факторов на этапе подготовки, анализа и интерпретации. Потенциал Ki-67 как биомаркера еще не раскрыт в полной мере, но понимание возможностей и ограничений методов оценки Ki-67 важно для реализации потенциала этого биомаркера (Gepta A. et al., 2021; Gown A. M., 2023; Халмедов Б.С. и соавт., 2026)

По данным Finkelman B. S. et al., (2023) мышиное моноклональное антитело Ki-67 было открыто в 1983 году. Антитело предназначено для выявления ядерного антигена, присутствующего только в пролиферирующих клетках, в активных фазах клеточного цикла (фазы G1, G2, M, S), и является основным фактором, определяющим прогноз и предиктивный потенциал не

только в здоровых тканях, но и при оценке патологических состояний в организме (Gillespie V. et al. 2011; Finkelman B. S. et al., (2023).

Однако, по мнению Brigandì E. et al. (2024) Ki-67 - ядерный белок, широко используемый для оценки клеточной пролиферации, экспрессируется не только в пролиферирующих клетках, но и во всех активных фазах клеточного цикла, включая раннее деление, что делает его одним из наиболее информативных маркеров клеточной активности. В отличие от многих других белков, связанных с делением, Ki-67 отсутствует в клетках, находящихся в фазе покоя (G_0), но появляется при переходе клетки в фазу G_1 и сохраняется вплоть до завершения митоза, демонстрируя чёткую зависимость от стадии клеточного цикла.

Ki-67 представляет собой ядерный негистоновый антиген, который кодируется геном MKI67 на хромосоме 10 (10q26-ter), состоит из 15 экзонов, 14 интронов и имеет молекулярную массу 320-359 кДа. Белок вырабатывается в активно пролиферирующих клетках и служит одним из наиболее надёжных маркеров клеточной пролиферации, позволяя отличать делящиеся клетки от находящихся в состоянии покоя (Skobecki M. et al., 2016; Sun X. et al., 2018; Gupta A. et al., 2021).

Уровень экспрессии Ki-67 различается на разных стадиях клеточного цикла, отражая динамическую роль этого белка в регуляции пролиферации. В гепатоцитах фосфопротеин выполняет особенно важные функции, обеспечивая стабильность и целостность хромосом во время митоза. Помимо структурной роли, Ki-67 в гепатоцитах может участвовать в регуляции транскрипции генов, необходимых для завершения митоза и перехода в интерфазу. В частности, он способен ассоциировать с факторами клеточного цикла и влиять на их активность, обеспечивая своевременный выход из митоза и начало нового клеточного цикла. (Ma Q. et al., 2024, Stamatiou K., et al, 2024).

В печени лошадей и собак рядом авторов было обнаружена значимая положительная корреляция между наличием иммунореактивности Ki-67 и

увеличением количества микротрубочек в гепатоцитах. Кроме того, экспрессия данного биомаркера была выявлена в звездчатых макрофагоцитах и свидетельствует о том, что эти резидентные макрофаги активно участвуют в клеточном цикле. Так же согласно исследованиям данных авторов, пролиферация может происходить как зрелых гепатоцитов, так и из бипотентных клеток-предшественников печени в ее портальных областях. При этом гепатоциты имеют слабое иммуноокрашивание Ki-67, которое варьировало от 0,4 % до 25,2 % (Verhoef J. N. C. et al., 2018).

У грызунов после 70% удаления долей печени эксперименты показали, что гепатоциты энергично включаются в клеточный цикл уже на 2-е сутки, демонстрируя выраженную экспрессию Ki-67 в фазах от G₁ до M. Однако на 3-и сутки после резекции количество Ki-67-положительных клеток уменьшается примерно на 1 %, что отражает естественную динамику регенераторного процесса (Miyaoka Y., et al., 2012).

1.4. КЛЕТКИ-ПРЕДШЕСТВЕННИКИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКОГО И МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Альфа-гладкомышечный актин/ α -SMA

В последнее время наблюдается большой интерес к мезенхимальным стволовым клеткам, которые способны стимулировать паракринные факторы, путем сочетания как межклеточного контакта, так и растворимые факторы, т. е. факторы роста, цитокины, внеклеточные гликопротеины матрикса, что обеспечивает структурную трофическую поддержку гепатоцитов, а также характеризуются влиянием на гепатоциты как антиапоптотическими, так и иммуномодулирующими действиями. Они представляют собой мультипотентные адгезивнорастущие клетки и играют важную роль в восстановлении тканей, как за счет локализованных иммуносупрессивных эффектов, так и за счет высвобождения растворимых трофических факторов, влияющих на соседние клетки, что приводит к их стабильности (Dominici. M. et al., 2006; Shi M. et al., 2012; Fitzpatrick. E. et al., 2015).

Li Y. et al. (2013), Yin C. et al. (2013), Lua I. et al. (2014) установили, что в печени локализован пул мезодермальных мезенхимальных клеток с способностью к трансдифференцировке или мезотелиально-мезенхимальному переходу. Они имеют мезенхимальные характеристики - экспрессируют коллаген и виментин. Канонический путь TGF- β играет ключевую роль в мезотелиально-мезенхимальном переходе (Li Y., et al., 2013; Yin C. et al., 2013; Lua I. et al., 2014; Kawada N. et al., 2015).

Мезенхимальные стволовые клетки дифференцируются в гепатоциты в соответствующих условиях, как *in vitro*, так и *in vivo*. Они могут модулировать повреждение печени, а также способствовать естественной ее регенерации. В свою очередь, высокая продукция альбуминов гепатоцитами приводит к вторичной трансдифференцировке мезенхимальных стволовых клеток в гепатоциты (Fitzpatrick. E. et al., 2015).

Миофибробласты экспрессируют и гладкомышечные маркеры, и маркеры фибробластов. В отличие от миоэпителиальных клеток, гладкомышечная дифференцировка в них неполная, экспрессированы лишь некоторые мышечные маркеры (актин +, десмин вариабельно, кальдесмон и тяжелая цепь гладкомышечного миозина -). Еще один признак, позволяющий отличить миофибробласты от гладкомышечных клеток – характер экспрессии актина: в миофибробластах локализация маркера имеет окрашивание в виде «трамвайных путей» по периферии клеток, а в гладкомышечных клетках обнаруживают диффузную экспрессию в цитоплазме (Рехтман Н. и соавт., 2021).

По данным Valtolina C. et al., (2019), звездчатые клетки печени способны дифференцироваться в α -гладкомышечные миофибробласты с экспрессией α -SMA, а также в звездчатые макрофагоциты с экспрессией ламинина, которые являются основными компонентами стромы (Valtolina C. et al., 2017; Otte C. M., et al. 2018; Valtolina C. et al., 2019).

Согласно исследованиям Valtolina C. et al., (2017), в здоровой печени клетки, экспрессирующие α -SMA, находятся в портальной области, вокруг желчных протоков в гладкой мускулатуре кровеносных сосудов. При развитии жировой дистрофии отмечается увеличение этого биомаркера как в перипортальной области, так и по всей паренхиме.

По данным Kawada N. et al. (2015) и Rosa I. et al. (2021), миофибробласты локализуются в фиброзных перегородках и вокруг портальных трактов или организованы в виде плотной сети, окружая кровеносные сосуды и могут представлять собой почти непрерывный монослой. Такая пространственная организация, согласно авторам, гарантирует механическую поддержку соединительнотканых компонентов. Клетки играют критическую роль в регенерации, так как являются важными Wnt-продуцирующими клетками в процессе развития и гомеостаза у взрослых млекопитающих. Кроме того, клетки имеют паракринное влияние на координацию организации ткани в процессе морфогенеза и сохраняют

тканевой гомеостаз в течение постнатального развития жизни, так как участвуют в модуляции механической чувствительности и необходимой адаптации тканей к различным физиологическим условиям (Kawada N. et al., 2015; Rosa I. et al., 2021).

α -SMA – является важным маркером активации фибробластов, что отражает прогрессирование патологического процесса в печени (Suchitra A. et al., 2024; Иваниди М. С., 2025).

Как писали Бурганова Г. Р. и др., (2012) в печени α -SMA локализуется в гладкомышечных клетках сосудов, где он выполняет структурную и функциональную роль, обеспечивая сократительную способность сосудистой стенки и регулируя тонус внутripечёчных сосудов. Фосфопротеин регулирует пролиферацию и миграцию клеток печени, что непосредственно связано с его экспрессией в гепатоцитах при повреждении органа.

Миофибробласты печени с экспрессией α -SMA, кодируются ACTA2 геном, расположенным в локусе 10q22-q24. Согласно некоторых авторов Schmitt-Gräff A. et al., (1999) происхождение миофибробластов печени неоднозначно: считается, по крайней мере три клеточных источника — перисинусоидальные липоциты, портальные фибробласты и мезотелиальные клетки, трансформирующиеся в миофибробласты печени. Клетки идентифицируют также по наличию цитоглобина в цитоплазме, который является четвертым глобином у млекопитающих (Schmitt-Gräff A. et al., 1999; Yin C., et al., 2013; Kawada N. et al., 2015).

Cassiman D. et al. (2002) предположили, что в печени млекопитающих локализовано пять различных субпопуляций миофибробластов: портальные миофибробласты, миофибробласты септ, интерфейсные миофибробласты, активированные гемопоэтические стволовые клетки и фибробластические клетки.

Портальные миофибробласты и миофибробласты септ расположены в расширенной коллагеновой зоне вокруг портальных трактов и во внутренней области фиброзных септ соответственно. Эти клетки имеют высокую

экспрессию α -SMA и демонстрируют переменную экспрессию глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), фактора роста нервов головного мозга (BDNF) и α -В-кристаллина (ABCRYS). Установлено, что портальные миофибробласты впервые описаны более 50 лет назад в печени крыс, способны вырабатывать внеклеточный матрикс. Они экспрессируют грелин, Thy-1, фибулин 2, эластин, интерлейкин 6 (IL-6), кофилин и эктонуклеазы NTPDase 2, а также VEGFA, тем самым способствуя эндотелиальному тубулогенезу (Бурганова Г. Р. И соавт., 2012; Kawada N. et al., 2015).

По данным Mederacke et al., (2013), портальные миофибробласты являются источником 82–96% миофибробластов печени и локализованы, в основном, в области воротной вены с распространением на область центральной вены и постепенной трансформацией в миофибробласты с экспрессией α -SMA. Однако, Iwaisako K. et al., (2014), пишет, что данный пул клеток составляет 70% всех фибробластов.

Интерфейсные миофибробласты локализованы на границе между фиброзными перегородками и окружающей паренхимой печени. Они экспрессируют α -SMA, GFAP и ABCRYS, а также BDNF, молекулу адгезии нейронов (N-CAM), фактор роста нейронов (NGF) и нейротрофин 4 (NT-4) (Великородная Ю. И. и соавт., 2014; Kawada N. et al., 2015).

Активированные миофибробластоподобные гемопоэтические стволовые клетки расположены в синусоидальных капиллярах или вокруг них. Они экспрессируют α -SMA и N-CAM и являются положительными по GFAP, NGF, BDNF, NT-3 и синаптофизину, а также NT-4, ABCRYS, p75 и тирозинкиназам рецепторов NT A и B. В цитоплазме клеток содержат капли витамина A, вырабатывают компоненты внеклеточного матрикса, в том числе коллаген I и III типов. Их трансформация в миофибробласты инициируется паракринной стимуляцией синусоидальными эндотелиальными клетками и звездчатыми макрофагоцитами, в некоторой степени, гепатоцитами, холангиоцитами, а также тромбоцитами. При трансформации миофибробластоподобных гемопоэтических стволовых клеток в

миофибробласты с экспрессией α -SMA, клетки синтезируют трансформирующий фактор роста β (TGF- β), который работает по принципу аутокринной петли. Активированные гемопоэтические стволовые клетки также вырабатывают повышенное количество матриксных металлопротеиназ (ММП), особенно ММП13, и их ингибиторов — тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИМП) (Kawada N. et al., 2015).

Mann D. A. и Smart D. E., (2002) и Lopez-Sanchez et al., (2014) установили, что дифференцировка миофибробластоподобных гемопоэтических стволовых клеток в миофибробласты имеет эпигенетическую регуляцию.

Фибробластические клетки синтезируют цитоглобин и фибрулин, а именно фибрулин 2+. Их относят к портальным миофибробластам (Kawada N. et al., 2015).

Cassiman D. et al., (2002) предположили, что портальные миофибробласты, кроме активированных гемопоэтических стволовых клеток, могут дифференцироваться из малодифференцированных фибробластов.

c-kit/CD117

Гемопоэтический трансмембранный фактор роста стволовых и прогениторных клеток c-kit (CD117) является цитокиновым рецептором c-kit, кодирующим тирозинкиназу III типа. В 1986 c-kit был идентифицирован как вирусный онкоген V-c-Kit или трансформирующий ген кошачьей саркомы Харди-Цукермана 4-го типа. В дальнейшем, этот клеточный гомолог, c-kit, был клонирован и секвенирован. Кроме того, было обнаружено, что c-kit является аллельным с доминирующим локусом W мышей. Он активизируется при связывании со своим лигандом, фактором стволовых клеток SCF, существующий как в мембранно-связанной, так и растворимой формами. Ген c-kit у грызунов картирован в W-локусе на хромосоме 5 (Lennartsson J. et al., 2012; Г Горяинов Н. В. и соавт., 2015; олубцова Н. В. и соавт., 2015; Пономарёв А. В. и соавт., 2016).

Опосредованный c-kit сигнал экспрессирует не только в стволовых клетках, но и в дифференцированных клетках, так как они зависят от c-Kit в своей пролиферации, выживании и функционировании. (Lennartsson J. et al., 2012; Агаджанова Л. С. И соавт., 2013)

Фактор стволовых клеток SCF экспрессируется прогениторными клетками по всему организму, способствуя пролиферации, миграции, выживанию и дифференцировке гемопоэтических предшественников и зародышевых клеток, а также подавляет апоптоз. Он сопоставляется с хромосомой 10 у мышей и с хромосомой 12 у человека. У человека, мышей и крыс SCF кодируется 9 экзонами. (Lennartsson J. et al., 2012; Дилекова О. В., 2014)

Регуляция SCF очень сложная с усилением экспрессии фактора в ответ на гипоксию, при этом стимуляция в клетках c-Kit способствует ангиогенезу даже в отсутствии гипоксии (Bedell M. A. et al., 1996; Lennartsson J. et al., 2012).

В клетках физиологически здоровых органов белок экспрессируется недифференцированными или слабодифференцированными гемопоэтическими клетками. Позитивная экспрессия протонкогена c-kit+ наблюдается в митотических и пролиферирующих клетках печени. Исследования некоторых ученых подтверждают связь c-kit (CD117) - позитивных клеток с гормональной сигнализацией организма (Горяинов Н. В. и соавт., 2015; Yan W. et al., 2018; Metodiev D. et al., 2024).

Согласно сообщению Blume-Jensen P. et al. (1991), c-kit в большей степени локализуется в эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи.

Xiang Z. et al. (2007) описывает локализацию данного маркера только в структурных компартментах аппарата Гольджи.

Согласно Taylor M. L. et al. (2001) при внутриклеточной локализации c-kit часть данного белка все же находится на поверхности клетки для

регулирования хемотаксиса, так как клетки, экспрессирующие c-kit, контролируют и мигрируют к растворимому SCF.

Regan J. L. et al. (2012) продемонстрировали, что подавление c-kit (CD117) снижает пролиферацию и повышает уровень апоптоза эпителиальных клеток. Однако до сих пор не известно, какую функциональную роль играет в отношении поддержания клеток в состоянии предшественника, как модулируется экспрессия во время дифференцировки и могут ли изменения в балансе между состоянием дифференцировки влиять на развитие патологии в органах.

C-kit (CD117)-положительные эпителиальные клетки в органе имеют архитектуру в виде пятнистого или рассеянного рисунка. Кроме того, клетки экспрессируют GATA3, которые играют решающую роль в созревании эпителия. Авторы предполагают, что эти два подкомпартамента иерархически связаны с промежуточным CD117/GATA3-экспрессирующими клетками. Таким образом, клетки, экспрессирующие c-kit (CD117) могут являться ранними прогениторными, а CD117/GATA3 – поздними предшественниками, переходящими в зрелые клетки. Поскольку c-kit (CD117)-позитивные клетки составляют определенное количество клеток в органах, вполне возможно, что эта популяция может быть разделена еще дальше, включив подмножество предшественников, которые находятся еще ближе к вершине иерархии. Например, предполагаемый маркер-предшественник цитокератина 14, экспрессирующий в печени, может очень сильно превосходить CD117/SCF-положительных клеток (Дилекова О. В., 2015; Kim J. et al., 2018).

Основываясь на экспериментах по отслеживанию происхождения c-kit (CD117)-позитивной популяции клеток на мышах, Van Keymeulen A. et al. (2011) продемонстрировали наличие долгоживущих унипотентных стволовых клеток с ограниченным происхождением или предшественников, ответственных за непрерывное обновление эпителиальных клеток. Используя маркер ki-67, они определили, что большинство делящихся эпителиальных

клеток принадлежат к c-kit (CD117)-позитивной популяции и вносят активный вклад в гомеостаз тканей.

По данным Paronetto M. P. et al. (2003), c-kit способен передать сигналы, действуя как каркасный белок. Авторами было показано, что микроинъекции c-kit в яйцеклетки мыши вызывает активацию киназы, с последующим запуском перехода яйцеклетки из метафазы в анафазу.

Таким образом, анализируя полученные сведения из доступной отечественной и зарубежной научной литературы постнатального онтогенеза печени, ее физиологической регенерации, структурно-функциональной организации и локализации стволового компартмента клеток гемопоэтического и мезенхимального происхождения часто дополняют друг друга, однако, присутствуют противоречивые сведения, которые требуют дополнений и уточнений.

Для этого необходимо более детальное изучение печени, особенно у лабораторных животных-крыс, которые являются основным биологическим объектом для изучения различных заболеваний гепатобилиарной системы, результаты которых, в дальнейшем, интерпретируются на патологии заболевай данной системы у животных и человека.

Учение о стволовых клетках за последние 5 лет в общемировом научном обществе претерпевает радикальные изменения, на что указывают многочисленные исследования. Наличие не только стволовых клеток, но и клеток дифференцированных и способных к трансдифференцировке в печени диктуют нам необходимость к пониманию их локализации в связи со структурным строением органа в целом, генетической детерминации и фенотипических признаков.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научные исследования по диссертационной работе проведены на базе ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», института ветеринарии и биотехнологий, на кафедре паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии имени профессора С. Н. Никольского с 2021 по 2026 годы.

Объектами при выполнении диссертационного исследования служили самцы крыс (n=160) от 1-суток до 12-месячного возраста. При содержании грызунов соблюдали международные правила Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными и «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложением к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1997 г.). Грызуны содержались в виварии в стандартных условиях, с поддержанием рекомендуемого рациона и режима кормления (по ГОСТ Р 50258–92). Убой грызунов проводили в соответствии с заключением локального независимого этического комитета «Донской государственный технический университет» №3 от «20» июня 2024г.

Материалом для настоящей работы являлась печень, которая была отобрана целиком после умерщвления крыс, с последующим вскрытием по методу Г.В. Шора. Орган животного извлекали вместе с окружающей жировой тканью и удерживающих ее серозных связок, после чего промывали 0,9% NaCl и помещали в чашки Петри, не допуская подсушивания на воздухе. Извлеченную железу перфузировали в 10% нейтральном забуференном формалине (БиоВитрум, Россия) в течение 48 часов для гистологических и иммуногистохимических исследований, после чего с краниальной части центральной доли вырезали кусочки, с захватом Глиссоновой капсулы, размером 1 см³.

После фиксации проводили регидратацию кусочков через спирты возрастающей концентрации (50°, 60°, 70°, 80° и 96°), депарафинизацию в ксилоле, и заливали образцы в гистологическую среду «Гистомикс Экстра»

(БиоВитрум, Россия). Все процессы подготовки материал проводили на гистологическом процессоре замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr (Sakura, Япония) и станции парафиновой заливки Tissue-Tek® TEC™ 5 (Sakura, Япония). Из полученных блоков при помощи ротационного микротом (Accu-Cut® SRM™ 200, Япония) и стола для подготовки гистологических срезов (Bio-Optica, Италия) делали срезы толщиной 3–4 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином (Bio-Optica, Италия и БиоВитрум, Россия) на автоматическом мультитейнере Prisma™ (Sakura, Япония).

Иммуногистохимические исследования были направлены на выявление нуклеолярных белков (нуклеолин/NCL, нуклеофозмин/NPM1, фибрилларин/FBL), маркера пролиферативной активности (ki-67), белков промежуточных филаментов мезенхимального происхождения (альфа-гладкомышечный актин/ α -Actin Smooth Muscle), рецептора стволовых клеток (c-kit (CD117)) (таблица 1).

Таблица 1 - Характеристика первичных антител

Антитела	Клон	Антиген	Клетки, экспрессирующие антиген
NCL	MS-3	нуклеолин	В ядрах, ядрышке и цитоплазме клеток
NPM1	SP236	нуклеофозмин	В ядрышке и цитоплазме клеток
FBL	28F2	фибрилларин	В ядрышке и цитоплазме клеток
ki-67	MIB-1	ki-67	В ядрах и цитоплазме клеток
α -SMA	1A4	α -гладкомышечный актин	Гладкомышечные клетки сосудов, перициты, миоэпителиальные клетки, миофибробласты
c-kit	T595	c-kit (рецептор к фактору стволовых клеток), CD117	Глиальные клетки, тучные клетки, меланоциты, одонтобласты, кардиомиоциты

Для иммуноокрашивания использовали поликлональные кроличьи антитела к Anti-Nucleolin antibody, Anti-Nucleophosmin antibody (SP236), Anti-Fibrillarin [28F2] antibody (Abcam plc, Великобритания) и моноклональные кроличьи антитела к Anti-Ki-67 antibody (Richard-Allan ScientificCo, США), c-kit (CD117) (SpringBioScience, США), моноклональные мышинные антитела к Actin-Smooth Muscle (1A4).

Негативным контролем служили реакции с заменой первых антител раствором для разведения (TermoSceintific, США).

Депарафинизацию и дегидратацию проводили классическим методом. Демаскировку антигенов выполняли высокотемпературной обработкой в пароварке в течение 20 минут путем погружения гистологических срезов в 5% раствор TrilogyTM (CELL MARQUE, Нидерланды). После этого стекла со срезами ополаскивали в 5% буфере TBS IHC Wash Buffer+Tween 20 (TBS (Tween 20x) (CELL MARQUE, Нидерланды), затем смывали буфер в течение 10 секунд в дистиллированной воде. После этого стекла обрабатывали в 3% растворе аптечной H₂O₂ с добавлением 1 мл Peroxide Block (CELL MARQUE, Нидерланды) в течение 10 минут с целью блокировки эндогенной пероксидазы, после чего стекла со срезами ополаскивали в дистиллированной воде в течение 10 секунд, помещали в 5% буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут. После буфера вокруг срезов делали гидрофобный слой гидрофобным барьерным карандашом-маркером rap-rep (SpringBioScience, США). На срезы наносили блокировочный раствор Background Block TM (CELL MARQUE, Нидерланды) на 10 минут, после чего со срезов удаляли излишки раствора, путем их промакивания бумажным фильтром и наносили первичные антитела Anti-Nucleolin, Nucleophosmin, Fibrillarin, Vim, α-SMA, c-kit, ki-67- antibody. Далее выполняли инкубацию срезов во влажной камере при температуре 27°C в термостате в течение 24 часов, смывали первичные антитела путем погружения стекол со срезами в 5% буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут. Наносили раствор № 1 полимерной системы детекции HiDef DetectionTM Amplifier (Mouse and Rabbit) (CELL

MARQUE, Нидерланды) и инкубировали в течение 60 минут во влажной камере в термостате при температуре 27°C. Смывали раствор № 1, помещая в 5% буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут, наносили раствор № 2 полимерной системы детекции HiDef Detection™ HRP Polymer Detector (CELL MARQUE, Нидерланды), инкубировали в течение 60 минут во влажной камере при температуре 27°C. После инкубации раствор № 2 смывали в 5% буфером TBS (Tween 20x) в течение 5 минут. После буфера на срезы наносили хромоген DAB Substrate Kit (CELL MARQUE, Нидерланды) на 3–5 минут. Интенсивность связи хромогена с исследуемым антителом в каждом препарате контролировали под микроскопом. По достижению интенсивного коричневого окрашивания срезы промывали в 2-х сменах дистиллированной воды по 5 минут в каждой. Далее проводили докраску ядер гематоксилином Майера в течение 3 минут, после чего их снова промывали в буфере и погружали в дистиллированную воду, в которую для получения щелочной среды добавляли 1 мл аммиака на 100 мл воды. После того, как срезы приобретали голубой оттенок, стекла извлекали, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и ксилоле по стандартной схеме и заключали в монтирующую среду (БиоВитрум, Россия).

Оценку интенсивности экспрессии иммунореактивного материала проводили визуально согласно методу, предложенному Л. Е. Гуревич (2003), с учетом процента активных клеток и суммы площади иммунопозитивных структур.

1. Положительная иммунореактивность (ИГХ 3+), если наблюдается периферическое мембранное полное интенсивное окрашивание более 10% опухолевых клеток.
2. Иммунореактивность неопределенная (ИГХ 2+), если наблюдается от слабой до умеренной интенсивности, полное мембранное окрашивание более 10% опухолевых клеток.

3. Иммунореактивность отрицательная (ИГХ 1+), если наблюдается неполное, слабое/едва заметное мембранное окрашивание более 10% опухолевых клеток.
4. Иммунореактивность отрицательная (ИГХ 0), если не наблюдается окрашивание или отмечается неполное, слабое/едва заметное мембранное окрашивание 10% или менее опухолевых клеток.

Все гистологические и иммуногистохимические исследования выполнены с помощью цифрового микроскопа OLYMPUS BX53 со встроенным фотоаппаратом С 300 (Япония). С каждого гистологического препарата выполняли по 10 цифровых снимков случайно выбранных полей зрения при увеличении $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$, $\times 1000$.

Оптическую плотность на 1 мм^2 высчитывали по формуле: $N = n / (S / 1000)$, где N-оптическая плотность экспрессируемых клеток на 1 мм^2 , n - количество экспрессируемых гепатоцитов, S – площадь среза в мкм, $S / 1000$ – площадь среза, переведенная в мм.

Морфометрические исследования выполняли с помощью программного обеспечения QuPath (Великобритания) выпуск v0.5.1. для Windows 10.

Для определения функциональной активности железы проводили измерения площади долек.

С целью изучения функциональной активности гепатоцитов рассчитывали ЯЦО в клетках по формуле – $\text{ЯЦО} = S_{\text{я}} / S_{\text{ц}}$, где $S_{\text{я}}$ – площадь ядра клетки; $S_{\text{ц}}$ – площадь цитоплазмы.

Статистическую обработку полученных цифровых данных проводили с применением однофакторного дисперсионного анализа и критерия множественных сравнений Ньюмена-Кейлса в программе «Primer of Biostatistics 4.03» для Windows. Достоверными считали различия при $p \leq 0.05$.

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научных статьях: Иваниди М.С., Дилекова О. В. (2024, 2024), Иваниди М.С., Дилекова О. В., Митенко В. В (2025), Иваниди М.С. (2025), М. Ivanidi, O. Dilekova, M. Shchipakin, I. Ziruk (2025), Иваниди М. С., Дилекова О. В., Скрипкин В. С. (2025), которые содержат уточненные, расширенные и новые сведения.

2.2.1 ОСОБЕННОСТИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

При микроскопическом исследовании гистологических препаратов 1-суточных самцов выявлено слабо выраженное дольчатое строение органа. Печеночные эпителиоциты небольших размеров, полигональной формы. Присутствуют очаги экстрамедуллярного гемопоэза (рисунок 1), что отражает физиологические процессы, характерные для раннего постнатального периода.



Рисунок 1 – Печень. ○ Очаг экстрамедуллярного гемопоэза. Крыса. Самец 1 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×200.

Ядра крупные, что, по нашему мнению, связано с высокой транскрипционной активностью, что согласовывается с исследованиями Ельчанинова А. В. и Большаково Г. В. (2011). Они занимают большую часть

клетки, цитоплазма скудная, содержит единичные жировые капли. Синусоидные капилляры расширены.

Соединительная ткань развита слабо, печеночные триады распределены равномерно между дольками, в них слабо идентифицируются междольковые желчные протоки. Поскольку в первые дни жизни печень является главным органом кроветворения, центральные вены имеют широкий просвет и часто содержат клетки крови (рисунок 2). Это связано с тем, что очаги гемопоэтической активности сохраняются и неполная сформированность сосудов может приводить к временному скоплению клеток крови, что согласовывается с результатами Марковец Н. И. (2016).

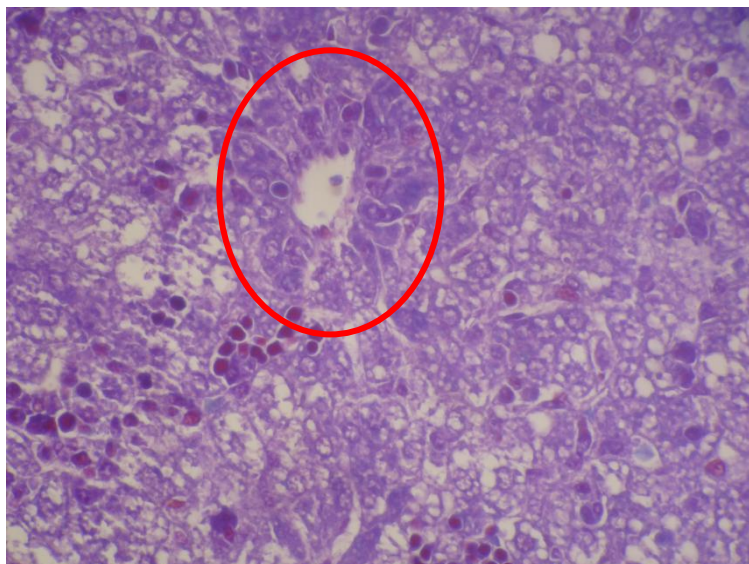


Рисунок 2 – Печень. ○ Центральная вена. Крыса. Самец 1 сутки. Окраска по Малори. Ув. $\times 400$.

У 1-недельных грызунов становится более выраженная дольковая структура, центральные вены и печеночные триады имеют не полностью упорядоченный вид, с тонкой трабекулярной структурой в сравнении с грызунами более старшего возраста. Клетки увеличиваются в размерах, ядра остаются относительно крупными. Очаги экстрамедуллярного кроветворения просматриваются в единичных случаях, синусоидные капилляры сужаются. Соединительная ткань уплотняется, центральные вены приобретают более выраженные стенки. Просветы желчных канальцев расширяются, желчные протоки начинают ветвиться (рисунок 3).

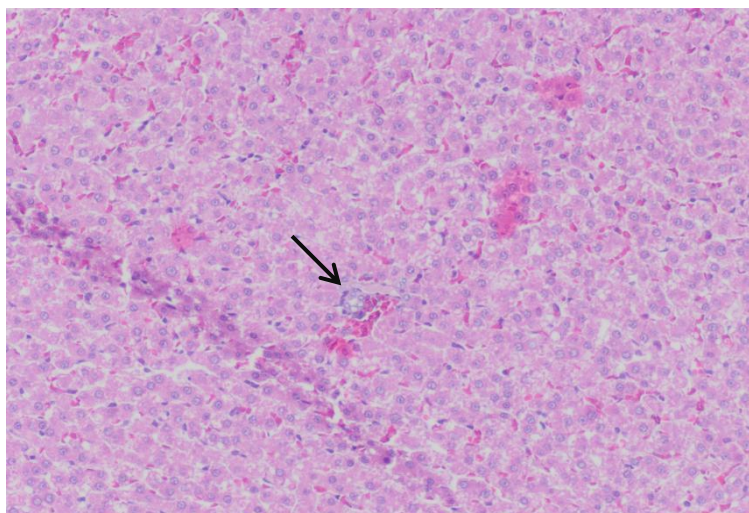


Рисунок 3 – Печень. ↑ Желчный проток. Крыса. Самец 1 неделя. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

Гистологическая картина 2-недельных грызунов показывает четко сформированную дольчатую архитектуру с выраженными центральными венами и печеночными триадами, расположенными по периферии долек. Упорядочиваются печеночные пластинки, паренхима становится более компактной. Гепатоциты достигают больших размеров, ядра становятся меньше относительно цитоплазмы (рисунок 4).

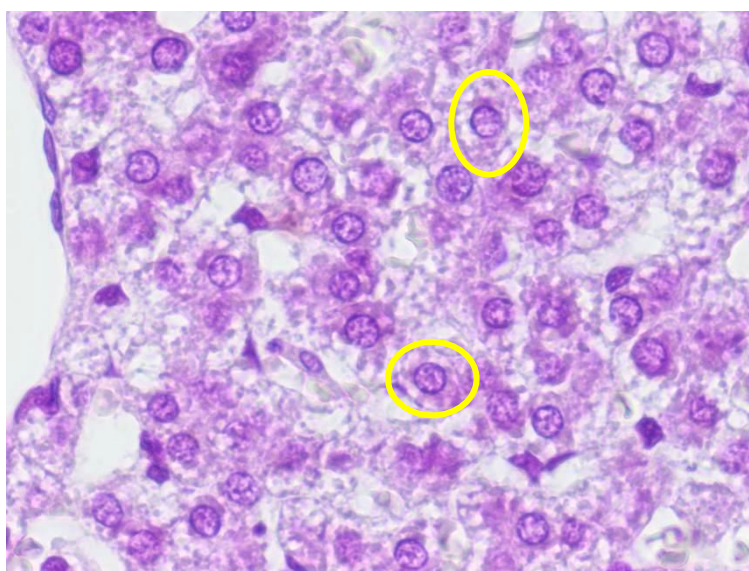


Рисунок 4 – Печень. ○ Гепатоциты. Крыса. Самец 2 недели. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$.

Местами просматриваются липидные включения, что мы связываем с адаптацией к смешанному типу питания. Очаги экстрамедуллярного

кроветворения практически отсутствуют, на смену появляются зрелые формы клеток крови, что позволяет сделать заключение о дифференцировке структур печени в связи с переходом крыс от неонатального к ювенильному периоду жизни. Структура синусоидных капилляров сужена, соответствует взрослому организму, в просветах регистрируются синусоидальные макрофаги печени (рисунок 5). Печеночные триады полностью дифференцированы, желчные протоки окружены плотной соединительной тканью, активно ветвятся, просветы желчных канальцев регулярны и четко различимы. Центральные вены развиты хорошо.

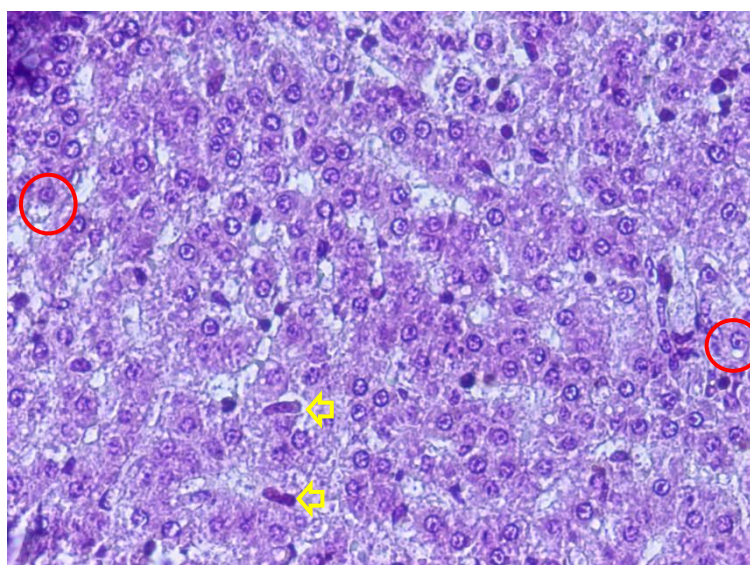


Рисунок 5 – Печень. ○ Липидные включения. ↘ синусоидальные макрофаги печени. Крыса. Самец 2 недели. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×200.

В 3-недельном возрасте у самцов крыс наблюдается полностью сформированная дольковая архитектура, печеночные пластинки состоят из 2–3 слоев гепатоцитов. Клетки крупные, полигональной формы, ядра округлой формы, расположены в центре клетки. Наблюдаются единичные жировые капли, что, вероятно, служит запасом энергии и согласуется с результатами Кондрашевской М. В. и соавт. Синусоидные капилляры узкие, содержат только зрелые клетки крови. Печеночные триады регулярные, как правило, воротные вены окружены тонкой мышечной стенкой, печёночные

артерии с выраженным мышечным слоем, желчные протоки окружены плотной соединительной тканью (рисунок 6).

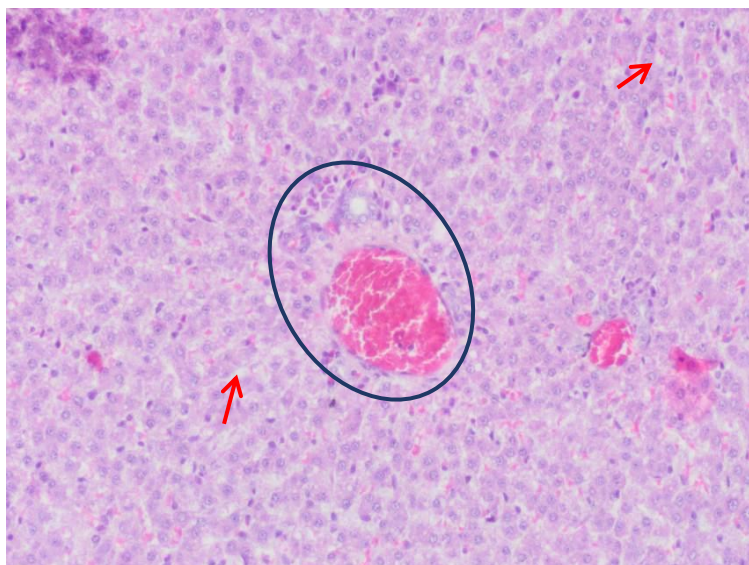


Рисунок 6 – Печень. ○ Портальная триада. ↑ Синусоидные капилляры. Крыса. Самец 3 недели. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×200.

Согласно исследованиям Бугаёвой Л. И. и соавт. (2018), в 1-месячном возрасте у крыс завершается постнатальное созревание, что отражается в структурировании печени в виде балочно-радиальной архитектуры. Центральные вены расположены в середине долек, печеночные триады идентифицируются по периферии. Ядра округлые, центральные, с 1–3 ядрышками (рисунок 7).

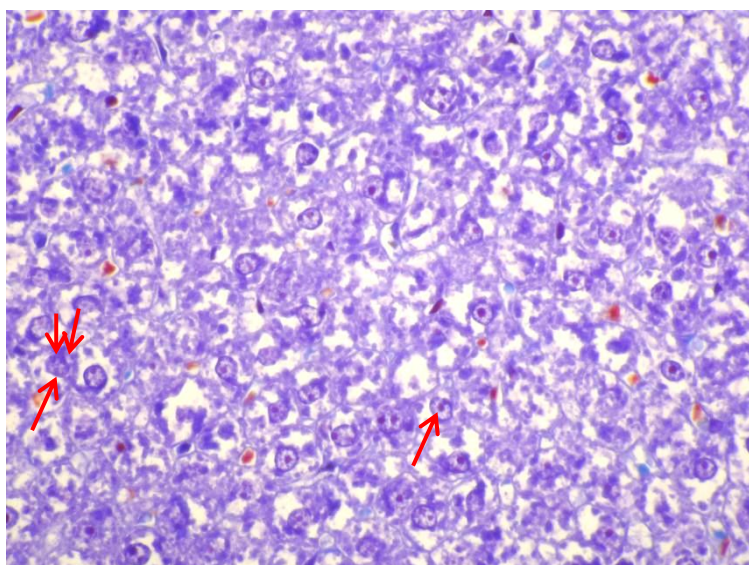


Рисунок 7 – Печень. ↑ Ядрышки. Крыса. Самец 1 месяц. Окраска по Малори. Ув. ×600.

Междольковая соединительная ткань представлена редкими соединительнотканными волокнами. Печеночные эпителиоциты крупные, с четкими границами, полигональной формы. Наблюдаются единичные жировые вакуоли, что свидетельствует о стабильном физиологическом метаболизме. Синусоидные капилляры узкие.

При изучении гистологических препаратов 2-месячных и 3-месячных грызунов нами установлено, что дольковая структура полностью организована, печеночные пластинки состоят из 2–3 слоев гепатоцитов, формируя радиальную трабекулярную сеть. Гепатоциты крупные, полигональной формы, в центре располагается 1–3 округлых ядрышка. Отмечается выраженная полиплоидия, что, по нашему мнению, является следствием активного роста не только грызуна, но и самой печени в целом с высокой синтетической функцией. Просматриваются единичные жировые включения. Архитектоника печеночных триад имеет типичное строение, рядом с которыми регистрируется активное развитие соединительной ткани (рисунок 8).

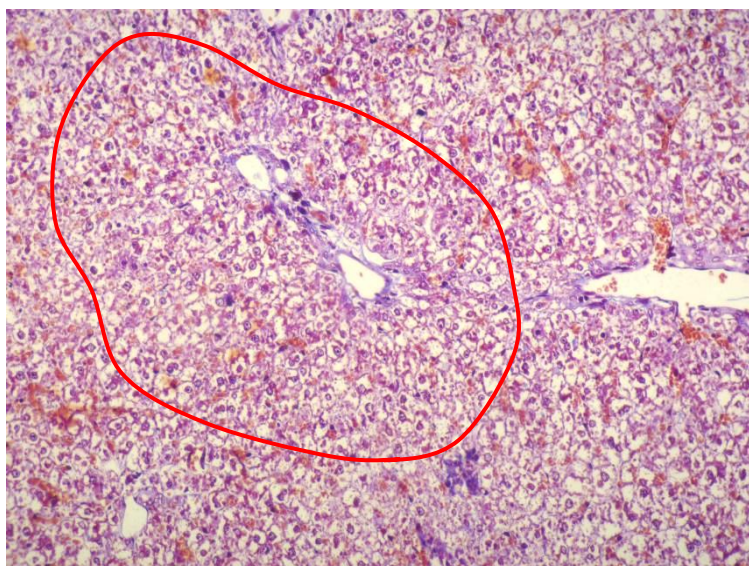


Рисунок 8 – Печень.  Разрастание соединительной ткани. Крыса. Самец 2 месяца. Окраска по Малори. Ув. $\times 100$.

Желчные протоки полностью дифференцированы. Просматриваются широкие просветы синусоидных капилляров, с большим количеством синусоидальных макрофагов печени (рисунок 9).

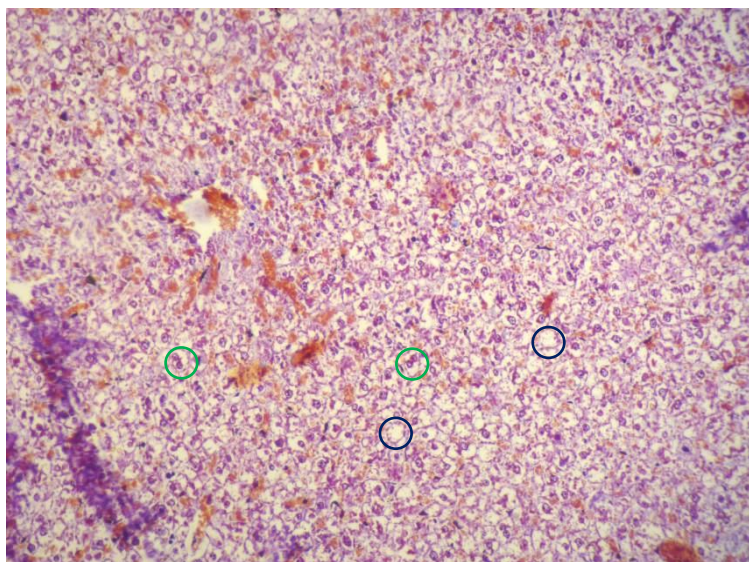


Рисунок 9 – Печень. ○ Полиплоидия гепатоцитов. ○ Широкие просветы синусоидных капилляров. Крыса. Самец 3 месяца. Окраска по Малори. Ув. $\times 100$.

Гистологическая структура печени 4-, 5- и 6-месячных грызунов не имеет принципиальных отличий от предыдущих возрастов. Наблюдается балочно-радиальное строение органа, дольки шестигранной формы. Экстрамедуллярный гемопоэз отсутствует. Синусоидные капилляры узкие, содержат зрелые клетки крови. Портальные триады полностью дифференцированы. Междольковые протоки полностью функциональны (рисунок 10).

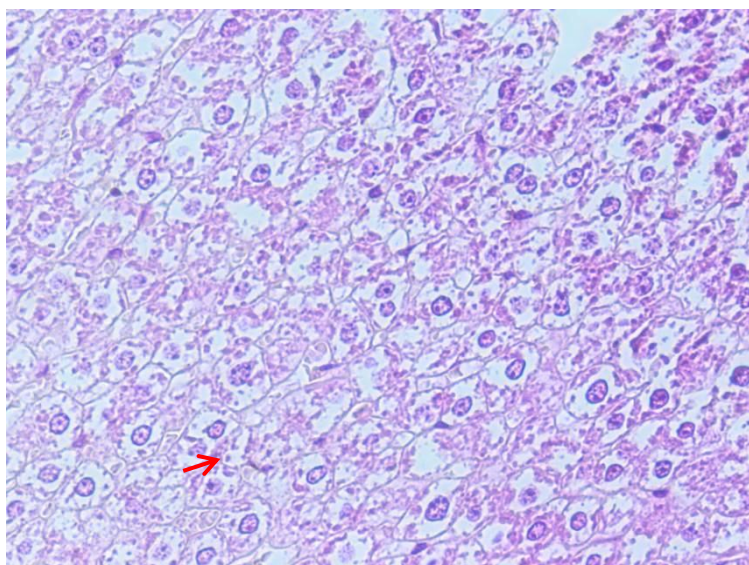


Рисунок 10 – Печень. ↑ Зрелые клетки крови в синусоидных капиллярах. Крыса. Самец 5 месяцев. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$.

Печеночные эпителиоциты крупные, полигональной форм, с выраженной цитоплазмой. В центральной части клетки располагается округлое ядро с 1–3 ядрышками.

При микроскопическом исследовании гистологических препаратов печени крыс с 7- до 12-месячного возраста, нами было установлено, что печеночные долики сохраняют шестигранную форму, в центре локализуются четко выраженные центральные вены с широкими просветами. Соединительнотканый компонент активно разрастается. Печеночные триады располагаются по периферии долек, в области которых локализованы кровеносные, лимфатические сосуды и желчный проток. В синусоидных капиллярах уменьшается количество звездчатых макрофагов (рисунок 11).

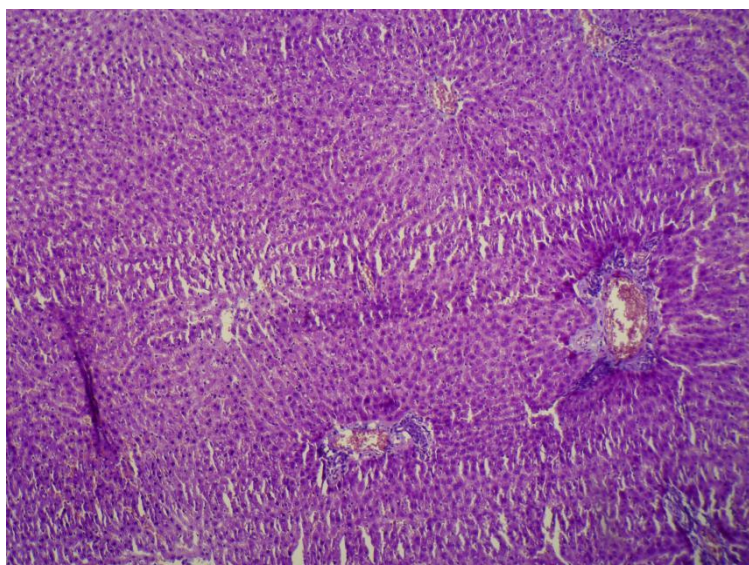


Рисунок 11 – Печень. Разрастание соединительнотканного компонента. Крыса. Самец 10 месяцев. Окраска по Малори. Ув. $\times 100$.

Морфометрическая картина печени крыс показала, что площадь долек имеет волнообразный характер изменений в течение постнатального периода. Так, в 1-суточном возрасте площадь долек составляет $6,6 \pm 1,89$ мкм^2 . К 1-недельному возрасту показатель достоверно снижается на 20,91% ($p \leq 0,05$), а в 2 недели на 73,95% ($p \leq 0,05$) и составляет $1,36 \pm 2,11$ мкм^2 . В 3 недели значение достоверно увеличивается в 3,0 раза, после чего снова достоверно уменьшается на 67,85% ($p \leq 0,05$) в 1-месячном возрасте. В 2-месячном

возрасте мы наблюдаем резкое достоверное увеличение в 5,0 раз и достоверное снижение в 3-месячном возрасте на 48,57% ($p \leq 0,05$). Такое динамичное изменение площади данной структуры связано, по нашему мнению, с поэтапным развитием органа. Так, в неонатальный период печень крыс имеет слабо дифференцированные доли, однако наблюдается активная гиперплазия гепатоцитов. Вдобавок ко всему, орган начинает синтезировать протеины и участвовать в обмене веществ, что также может сказываться на показателях. В ранний постнатальный период (1–4 недели) изменения показателей, по нашему мнению, зависят от активного роста органа за счет гиперплазии и гипертрофии. Согласно гистологической картине, в данный возрастной период дальнейшая дифференцировка и формирование сосудистой сети наблюдаются в связи с активным морфометрическим увеличением органа, что оказывает влияние на структурную организацию долек. Также, стоит отметить, что крысята постепенно начинают проявлять интерес к промышленному корму, а в 2-месячном возрасте полностью переходят на питание «по-взрослому», что характеризуется адаптацией печени к переработке твердой зерносмеси и увеличением массы организма в целом. По нашему мнению, данный факт вызывает стрессовое состояние у животных, в связи с переходом от молочного к углеводному питанию, и сказываться на изменениях показателей.

В дальнейшем, в 4-месячном возрасте снижается показатель площади долей на 9,72% ($p \leq 0,05$), а с 5 месяцев жизни самцов достоверно повышается на 84,62% ($p \leq 0,05$), в 6-месячном возрасте наблюдается незначительное повышение на 1% ($p \leq 0,05$) и составляет $6,06 \pm 2,64$ мкм². В 7 месяцев жизни самцов крыс площадь долей печени резко увеличивается на 23,1% ($p \leq 0,05$), а в 8 месяцев достоверно повышается на 28,69% ($p \leq 0,05$). В данный возрастной период увеличение показателей, по нашему мнению, связано с физиологической зрелостью. Орган постепенно достигает пика адаптации к метаболическим потребностям взрослого организма, когда ускоренный

синтез белков влияет на развитие скелетно-мышечной системы. Наиболее выраженный рост печени у самцов возможен, по нашему мнению, из-за активного выброса андрогенов.

При морфометрических исследованиях долей печени крыс нами было установлено, что в 9 месяцев значения показателя уменьшаются на 22,6% ($p \leq 0,05$), затем постепенно увеличиваются на 3,1% ($p \leq 0,05$) в 10-месячном возрасте, в 11 месяцев наблюдали снижение площади на 50,39% ($p \leq 0,05$) и незначительное увеличение на 13,16% ($p \leq 0,05$) в 12-месячном возрасте жизни крыс. На этапе морфофункциональной зрелости крыс, от 9- до 12-месячного возраста, динамичное волнообразное изменение площади долек, по нашему мнению, связано с возрастным развитием грызунов (таблица 2).

Таблица 2 - Морфометрические показатели печеночных долек печени крыс (n=160) в постнатальном онтогенезе

Возраст	Площадь долек, мкм ²
1 сутки	6,6±1,89
1 неделя	5,22±5,56
2 недели	1,36±2,11*
3 недели	4,23±1,055*
1 месяц	1,36±4856*
2 месяца	7,0±2,45*
3 месяца	3,6±362*
4 месяца	3,25±9220
5 месяцев	6,0±2,71*
6 месяцев	6,06±2,64
7 месяцев	7,46±2,28
8 месяцев	9,6±2,701*
9 месяцев	7,43±2,0*
10 месяцев	7,66±2,1
11 месяцев	3,8±1,25*
12 месяцев	4,3±1,025

Примечание: статистическая значимость различий (при $p \leq 0,05$) с более ранним возрастом обозначена *

Морфометрический анализ значений ЯЦО гепатоцитов показал, что в 1-суточном возрасте данные составляют 0,2±0,07. Достоверное повышение

показателя наблюдается вплоть до 3-недельного возраста в 2,8 раз ($p \leq 0,05$). По нашему мнению, данная тенденция связана с увеличением синтетической функции ядра, поскольку, различие в содержание мужских половых гормонов андростерона и тестостерона является ключевым звеном в изменении ЯЦО с возрастом. Андрогены действуют на клеточном уровне, когда свободный тестостерон проникает в клетку-мишень, где стимулирует синтез белка, за счет чего наблюдается рост печени, что согласуется с данными Marry R. K. et al. (1988). В клетке-мишени происходит изменение димеров рецептора, которые передаются в ядро, вследствие этого компартмент увеличивается, а следовательно, и объем цитоплазмы. Возможно, данный эффект сопряжен с накоплением клеточной рРНК, а также с фактом получения единичных материнских стероидов кортикостерона и пролактина с молоком, что влияет на пролиферацию гепатоцитов.

В 1-месячном возрасте печень проходит этап активного постнатального развития. Нами отмечено достоверное снижение активности синтетического аппарата клеток на 77,5% ($p \leq 0,05$) с последующим увеличением его на 17,9% ($p \leq 0,05$) в 2 месяца и на 6,67% ($p \leq 0,05$) в 3 месяца. В данный возрастной период, по нашему мнению, происходит дифференцировка клеток гепатобластных дифферонов, что влечет за собой снижение активности ферментов, участвующих в синтезе белков. Также происходит преобладание полового гормона андростерона, что может влиять на изменение показателей. Важным аспектом является смена типа питания крысят, когда грызуны постепенно приступают к употреблению промышленного корма, в дополнение к материнскому молоку.

В пубертатном периоде от 4- до 6-месячного возраста у крыс происходит гормональный всплеск, активный рост и подготовка к репродуктивной деятельности. В 4-месячном возрасте ЯЦО гепатоцитов достоверно увеличивается на 56,25% ($p \leq 0,05$), сохраняя свое значение до 5-

месячного возраста, и достоверно повышается на 20% ($p \leq 0,05$) в 6 месяцев (таблица 3).

Таблица 3 - Морфометрические показатели ядерно-цитоплазматического отношения печени крыс в постнатальном онтогенезе

Возраст	Площадь цитоплазмы гепатоцитов, мкм^2 ($M \pm m$)	Площадь ядра гепатоцитов, мкм^2 ($M \pm m$)	ЯЦО гепатоцитов ($M \pm m$)
1 сутки (n=10)	122 $\pm$ 33,6	30,17 $\pm$ 6,01	0,2 $\pm$ 0,07
1 неделя (n=10)	104 $\pm$ 16,52	32,9 $\pm$ 5,6	0,33 $\pm$ 0,1*
2 недели (n=10)	87,36 $\pm$ 18,96	28,07 $\pm$ 3,1	0,4 $\pm$ 0,12*
3 недели (n=10)	60,44 $\pm$ 12,58*	35,51 $\pm$ 4,41*	0,57 $\pm$ 0,17*
1 месяц (n=10)	435,3 $\pm$ 126*	54,39 $\pm$ 15,74*	0,128 $\pm$ 0,037*
2 месяца (n=10)	303,8 $\pm$ 64,56*	38,65 $\pm$ 9,27*	0,15 $\pm$ 0,056
3 месяца (n=10)	225,2 $\pm$ 54,39*	30,94 $\pm$ 7,84*	0,16 $\pm$ 0,21
4 месяца (n=10)	137,1 $\pm$ 35,84*	35,48 $\pm$ 6,32	0,25 $\pm$ 0,07*
5 месяцев (n=10)	210,8 $\pm$ 42,26*	51,34 $\pm$ 9,31*	0,25 $\pm$ 0,06
6 месяцев (n=10)	151,9 $\pm$ 30,43*	41,25 $\pm$ 5,68*	0,3 $\pm$ 0,07*
7 месяцев (n=10)	218,3 $\pm$ 39,42*	43,61 $\pm$ 8,15	0,23 $\pm$ 0,06*
8 месяцев (n=10)	282 $\pm$ 40,26*	65,08 $\pm$ 10,35*	0,2 $\pm$ 0,05
9 месяцев (n=10)	316 $\pm$ 57,68*	57,23 $\pm$ 9,3*	0,2 $\pm$ 0,041
10 месяцев (n=10)	345,7 $\pm$ 46,97*	53,89 $\pm$ 7,18	0,16 $\pm$ 0,03
11 месяцев (n=10)	226,5 $\pm$ 39,08*	55,9 $\pm$ 6,64	0,22 $\pm$ 0,05*
12 месяцев (n=10)	217,1 $\pm$ 49,71	58,28 $\pm$ 7,67	0,3 $\pm$ 0,06*

Примечание: статистическая значимость различий (при $p \leq 0,05$) с более ранним возрастом обозначена *

В данный промежуток жизни у самцов крыс, по данным Marry R. K. et al. (1988), возрастает секреция тестостерона, которая сохраняет свое значение до конца жизни, что влечет за собой увеличение белковой активности для поддержания роста мышц и тканей. По нашему мнению, возрастание синтеза белков необходим для транспорта гормонов, а также, вероятнее всего, повышается фактор свертывания крови, в связи с ростом сосудистой сети, что, мы также увидели при микроскопическом исследовании печени.

В 7-месячном возрасте синтетическая активность ЯЦО достоверно уменьшается на 23,33% ($p \leq 0,05$), в 8 месяцев снижается показатель на 13,04% ($p \leq 0,05$) и сохраняет свое значение до 9-месячного возраста. В 10-месячном возрасте ЯЦО гепатоцитов уменьшается на 20% ($p \leq 0,05$). Принимая во внимание, полученные данные, мы можем сделать заключение о том, что наступает завершение репродуктивного периода жизни, в связи с уменьшением секреции тестостерона, и наступает стабильный уровень обмена веществ.

С 11- до 12-месячного возраста наблюдается достоверное увеличение ЯЦО на 36,36% ($p \leq 0,05$) и составляет $0,3 \pm 0,06$, которое, возможно, связано с компенсаторным механизмом, в связи со снижением регенеративной способности. На этапе зрелости, по нашему мнению, помимо возрастных изменений, на увеличение синтетической активности влияет усиленный метаболизм гепатоцитов.

Таким образом, гистологическая структура печени к 4-му месяцу жизни приобретает полностью сформированную дольковую архитектуру, сохраняющуюся до 12-месячного возраста.

Для площади долек характерен волнообразный характер изменений, что свидетельствует о динамических процессах адаптации и ремоделирования ткани в постнатальном периоде, в то время как значения ЯЦО гепатоцитов остаётся стабильно высоким на протяжении всего исследуемого периода, что указывает на сохранение высокой функциональной активности клеток печени.

2.2.2. ЭКСПРЕССИЯ НУКЛЕОЛЯРНЫХ БЕЛКОВ И МАРКЕРА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ПОСТНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ ПЕЧЕНИ КРЫС

В результате исследований морфофункциональных белков областей ядрышковых организаторов нами установлено, что у крыс экспрессия маркера NCL варьирует от умеренной (++) (рисунок 12) до интенсивной (+++) (рисунок 13), а его субклеточная локализация демонстрирует полиморфизм и представлена тремя основными типами: цитоплазматическим, ядерным и ядрышковым.

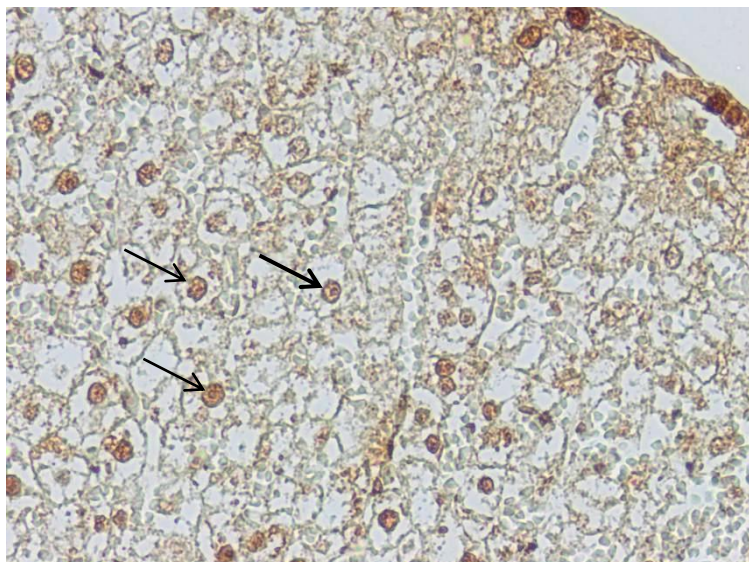


Рисунок 12 – NCL+ ↑умеренная экспрессия (++) . Крыса. Самец 2 месяца. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×200.

Такая разнородность распределения отражает многофункциональность нуклеолина и его участие в различных клеточных процессах, выходящих за рамки канонической роли в биогенезе рибосом. Ядрышковая экспрессия NCL, наиболее интенсивная в плотных фибриллярных и гранулярных компонентах ядрышка, соответствует его ключевой функции в процессинге пре-рРНК и сборке прерибосомных частиц. Ядерная локализация NCL, выявляемая вне ядрышка, свидетельствует о его вовлечённости в дополнительные ядерные функции. Цитоплазматическая экспрессия NCL может быть связана с его участием в транспорте зрелых рибосомных

субъединиц из ядра, регуляции трансляции или взаимодействии с сигнальными молекулами.

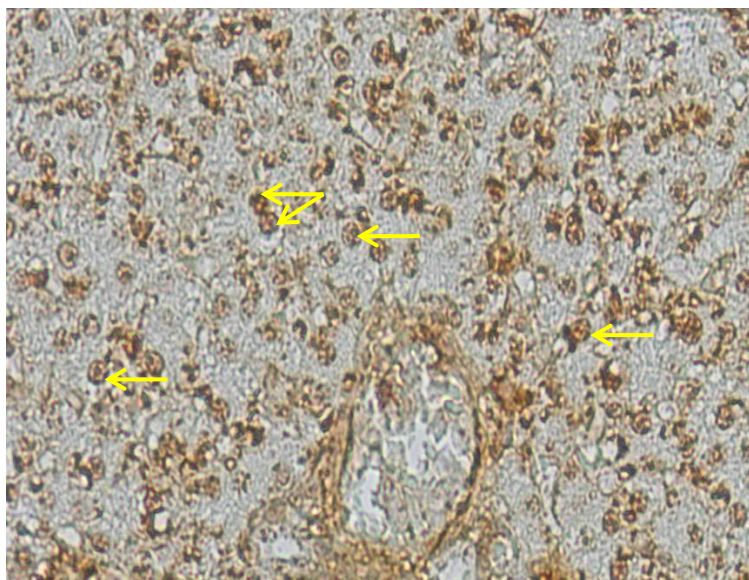


Рисунок 13 – NCL+ ↑интенсивная экспрессия (+++). Крыса. Самец 2 недели. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×200.

Иммунореактивный материал заполняет цитоплазму в виде мелкозернистых гранул светло-коричневого цвета, равномерно распределенных по всей структуре (рисунок 14).

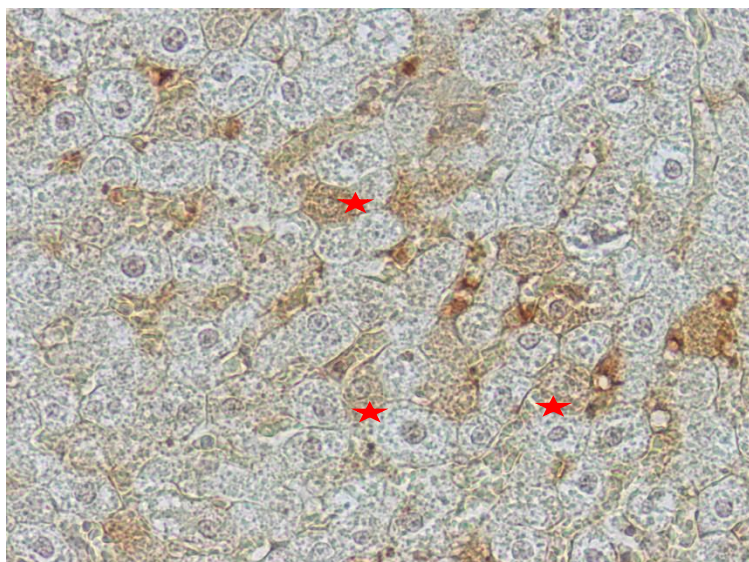


Рисунок 14 – NCL+ ★цитоплазматическая реакция. Крыса. Самец 12 месяцев. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×200.

В ядерной зоне имеет вид пылевидных зернистых наложений, с четкой визуализацией ядрышек, что свидетельствует о специфической локализации

целевого антигена в различных субкомпартаментах ядра и отражает функциональную активность клеточного аппарата биосинтеза (рисунок 15).

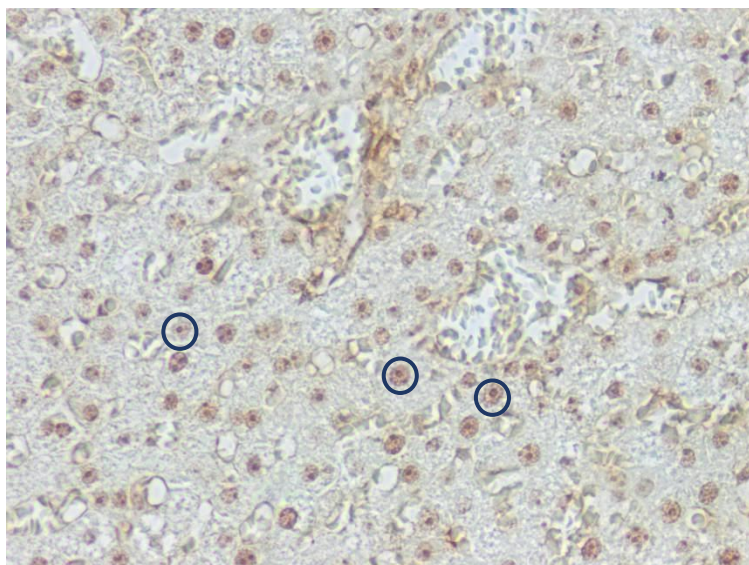


Рисунок 15 – NCL+ ○ ядерная реакция. Крыса. Самец 5 месяцев. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 100$.

Ядрышковая локализация характеризуется интенсивно коричневым оттенком от одного до четырех фрагментов четкой округлой формы, тотально заполняющими ядерный компартмент (рисунок 16). Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала.

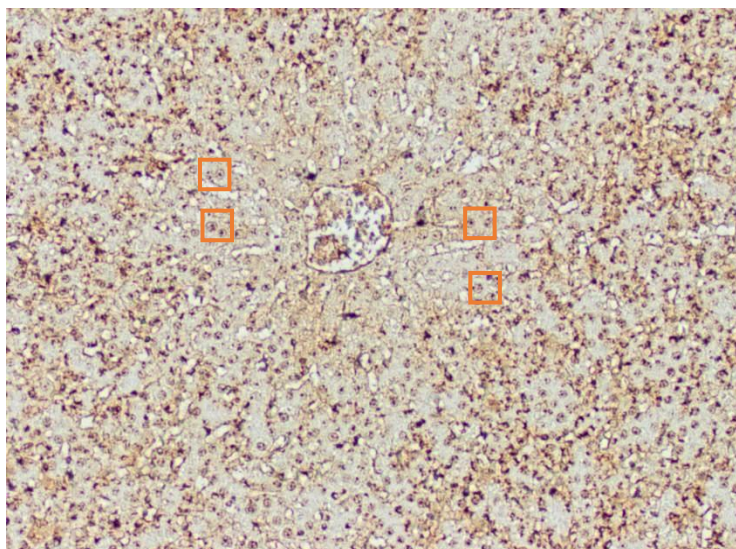


Рисунок 16 – NCL+ □ ядрышковая реакция. Крыса. Самец 2 недели. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 40$.

Экспрессия биомаркера B23 характеризуется как слабая (+), при этом паттерн регистрируется тотально в цитоплазме гепатоцитов. Материал

проявляется плотным мелкозернистым окрашиванием от светло- до темно-коричневого цвета, чётко описывая форму компартмента (рисунок 17).

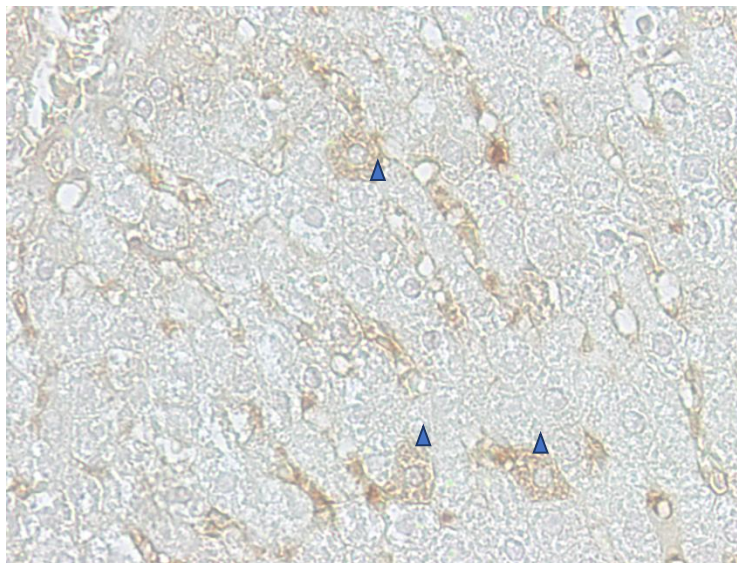


Рисунок 17 – B23+ ▲ цитоплазматическая реакция. Крыса. Самец 12 месяцев. ИГХ реакция на B23. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 200$.

В некоторых клетках просматривается выпадение гранул вблизи мембраны светло-коричневого цвета (рисунок 18). Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала.

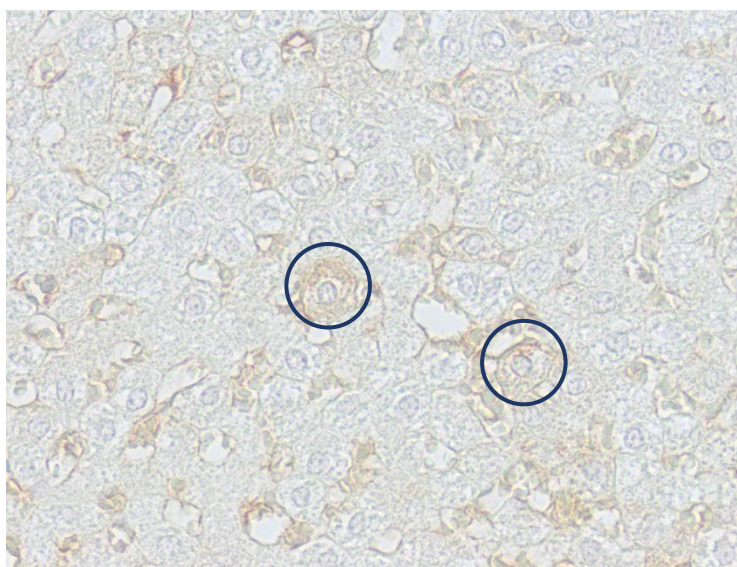


Рисунок 18 – B23+ ○ цитоплазматическая реакция. Крыса. Самец 11 месяцев. ИГХ реакция на B23. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 200$.

В гепатоцитах печени биомаркер FBL экспрессирует умеренно (++) , иммунореактивный материал визуализируется от мелко- до грубозернистого, в виде мелких неправильных фрагментов, собранных комплексно или

хаотично, полностью заполняющих клетку (рисунок 19) и перинуклеарно расположенных по отношению к ядру (рисунок 20).

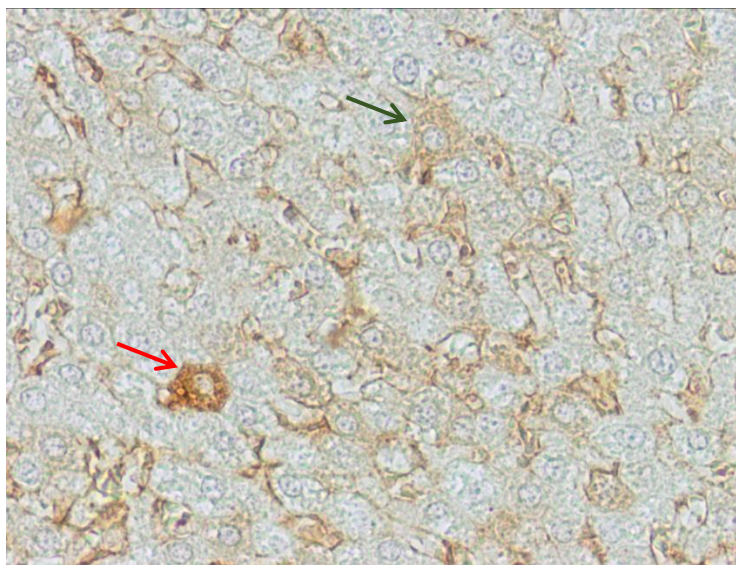


Рисунок 19 – FBL+ цитоплазматическая реакция, ▲ грубозернистый материал; ▲ мелкозернистый материал. Крыса. Самец 11 месяцев. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 200$.

Тип локализации – цитоплазматический. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала.

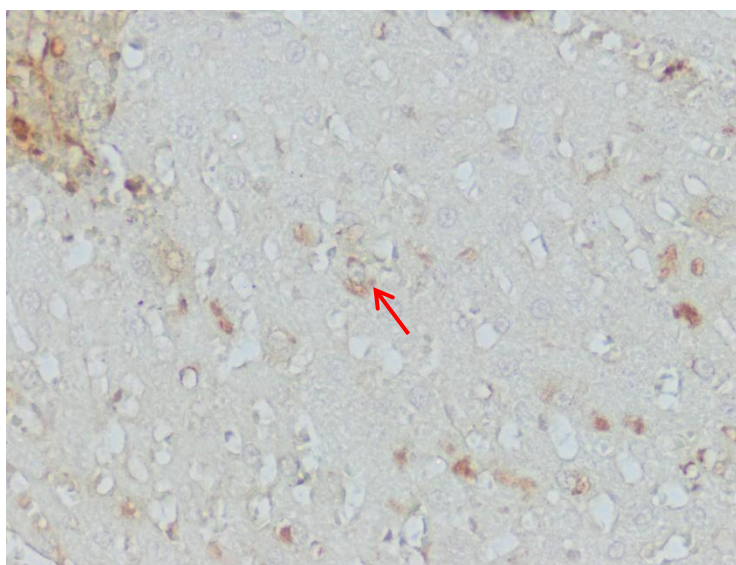


Рисунок 20 – FBL+ цитоплазматическая реакция, ▲ перинуклеарное расположение к ядру. Крыса. Самец 5 месяцев. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 200$.

Экспрессия паттерна ki-67 оценивается как умеренная (++)
Иммунореактивный материал выпадал в цитоплазматической области в виде

глыбчатого грубозернистого, хаотично расположенного конгломерата (рисунок 21).

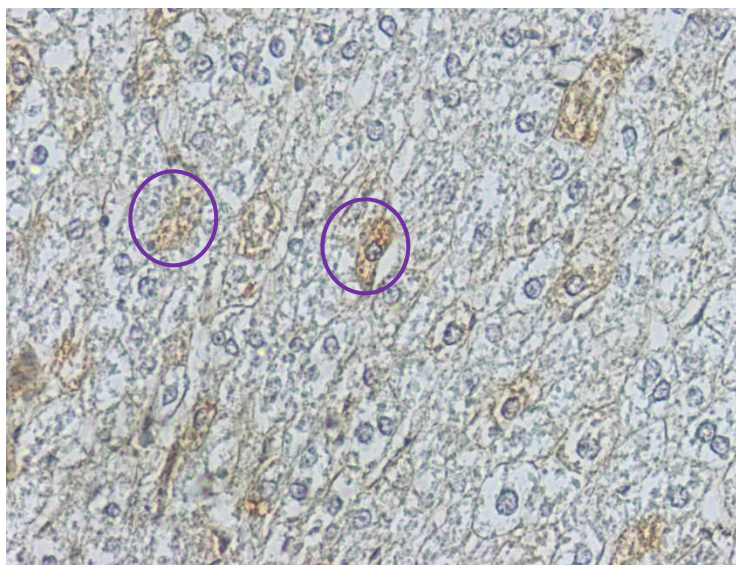


Рисунок 21 – ki-67+ цитоплазматическая реакция, ○ глыбчатый, грубозернистый конгломерат. Крыса. Самец 4 месяца. ИГХ реакция на ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×200.

В некоторых клетках паттерн тотально заполняет цитоплазму в виде плотного, мелкозернистого окрашивания (рисунок 22).

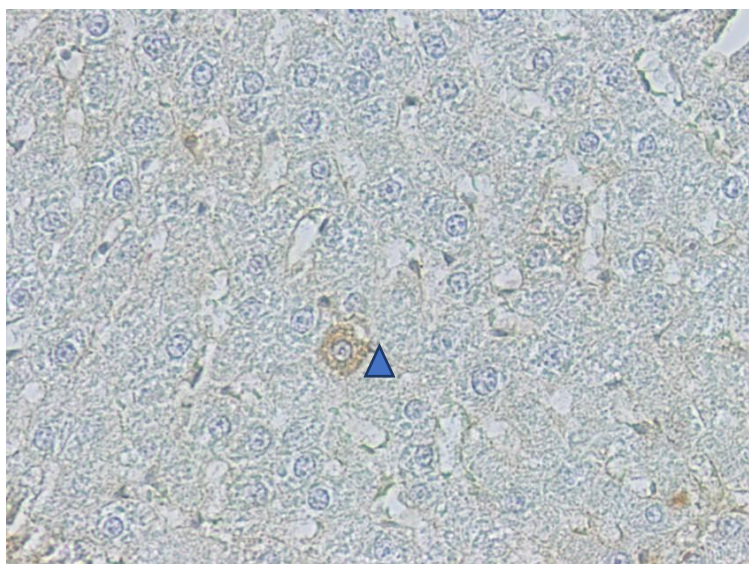


Рисунок 22 – ki-67+ цитоплазматическая реакция, ▲ плотное, мелкозернистое окрашивание. Крыса. Самец 6 месяцев. ИГХ реакция на ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×200.

Иногда прослеживается выпадение конгломерата в форме полумесяца, с четкими гладкими краями темно-коричневого оттенка, обтекающего ядро

клетки (рисунок 23). Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала.

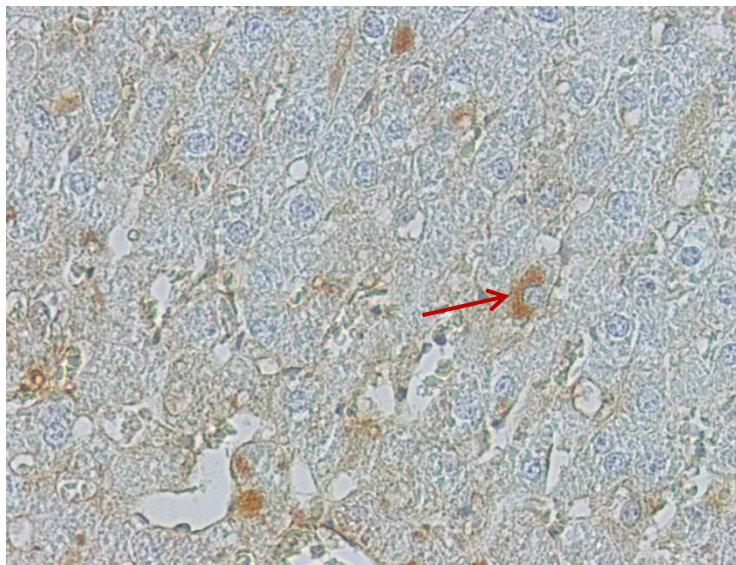


Рисунок 23 – ki-67+ цитоплазматическая реакция, ↑ конгломерат в форме полумесяца. Крыса. Самец 8 месяцев. ИГХ реакция на ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 200$.

Изменение оптической плотности на площадь срезов маркеров NCL, NPM1, FBL и ki-67 представлены в таблице 4.

Согласно результатам, представленным в таблице 4, экспрессия паттерна NCL наблюдается в 2-недельном, 1-месячном, 2-месячном, 5-месячном, 11-месячном и 12-месячном возрастах. Наивысший показатель оптической плотности NCL прослеживается в 2-недельном возрасте и составляет 0,34. Стоит учитывать факт активного роста гепатоцитов и формирования долек, а, поскольку, NCL является регулятором биогенеза рибосом и стабилизирует мРНК, высокая экспрессия связана с пролиферацией гепатоцитов и усилением биохимического аппарата печени. В 1-месячном возрасте оптическая плотность нуклеолина значительно ниже, чем в остальные возрастные периоды и составляет 0,004. Данный факт мы связываем с замедлением роста и завершением созревания гепатоцитов, когда основная функция печени нацелена на синтез ферментов и транспортных белков, а NCL обеспечивает орган производством рибосом, необходимых для этих процессов.

Таблица 4 - Оптическая плотность экспрессируемых гепатоцитов на 1мм²

Возраст самцов крыс	Нуклеолин (NCL/C23)	Нуклеофозмин (B23/NPM1)	Фибрилларин (FBL)	ki-67
2 недели (n=10)	0,34	0,04	-	0,01
1 месяц (n=10)	0,004	0,02	0,01	0,02
2 месяца (n=10)	0,3	-	-	0,02
3 месяца (n=10)	-	-	-	0,03
4 месяца (n=10)	-	-	0,04	0,05
5 месяцев (n=10)	0,22	-	0,03	-
6 месяцев (n=10)	-	-	-	0,05
7 месяцев (n=10)	-	-	-	0,07
8 месяцев (n=10)	-	0,15	0,02	0,06
9 месяцев (n=10)	-	-	0,01	0,08
10 месяцев (n=10)	-	0,01	0,35	0,01
11 месяцев (n=10)	0,03	0,12	0,04	0,03
12 месяцев (n=10)	0,04	0,12	-	0,01

В 2-месячном возрасте экспрессия фосфопротеина NCL отражает завершение ювенильного периода жизни. Пролиферация гепатоцитов вместе с синтезом рибосом снижается. Нуклеолин связывается с мРНК метаболических ферментов, что позволяет клеткам печени адаптироваться к смене питания, а также контролирует процессинг пре-рРНК, что необходимо для поддержания высокого уровня плазменных белков, синтезируемых печенью. В 5-месячном возрасте в крупной застенной железе может

происходить обновление гепатоцитов, за счет чего по данным Wen-Xiu B. et al. (2019) нуклеолин выступает как элемент врожденного иммунитета, распознавая патогенные РНК. В зрелом возрасте, от 11- до 12-месячного, наблюдается снижение экспрессии, что, вероятно, является показателем устойчивого гомеостаза.

Белок NPM1 экспрессирует в 2-недельном, 1-месячном, 8-месячном, 10-месячном, 11-месячном и 12-месячном. Наибольшая оптическая плотность наблюдается в 8-месячном возрасте и составляет 0,15. В данный возрастной период грызуны переходят на этап возмужания и, несмотря на высокую метаболическую активность, требуется рибосомный биогенез для постоянного синтеза белка, а также, по нашему мнению, активная экспрессия нуклеофозмина связана с фактом подавления провоспалительных сигналов и поддержании метаболического баланса.

Экспрессия фосфопротенина FBL наблюдается в 1-месячном, 4-месячном, 5-месячном, 8-месячном, 9-месячном, 10-месячном и 11-месячном возраста. Наивысшие значения показателя оптической плотности FBL наблюдаются в 10-месячном возрасте и составляют 0,35. Экспрессия паттерна, по нашему мнению, зависит от ферментативных процессов, протекающих в печени, которые происходят за счет активной работы рибосом. Так, экспрессия в 1-месячном возрасте зависит от глюконеогенеза, когда необходима адаптация организма к углеводам твердого корма. Также фосфопротеин обеспечивает высокий уровень трансляции белков, которые необходимы для поддержания метаболизма в исследуемых возрастных группах.

Экспрессия паттерна ki-67 наблюдаются почти во всех возрастных периодах, однако, наибольшая наблюдается в 9-месячном возрасте и составляет 0,08. Согласно исследованиям некоторых ученых (Anisimova A. S., Meerson M. B. et al. 2020) активный биосинтез белка, лежащий в основе старения организма, сопровождается увеличением трансляции мРНК печени, что согласуется с полученными нами данными. В ранний постнатальный

период печень активно растет, в связи с этим, по нашему мнению, гепатоциты находятся в клеточном цикле. В пубертатном периоде, по нашему мнению, умеренная пролиферативная активность может присутствовать из-за влияния гормонального фона.

Таким образом, в результате исследований нуклеолярных белков и маркера пролиферативной активности в постнатальном развитии печени крыс, нами было установлено, что наивысшие значения оптической плотности изучаемых патернов связаны с физиологическим регенеративным потенциалом органа.

2.2.3. ЭКСПРЕССИЯ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ГЕМОПОЭТИЧЕСКОГО И МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ПОСТНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ ПЕЧЕНИ КРЫС

В результате исследований постнатальных стволовых клеток нами установлено, что у крыс экспрессия маркера c-kit (CD117) умеренная (++) (рисунок 24), тип цитоплазматический.

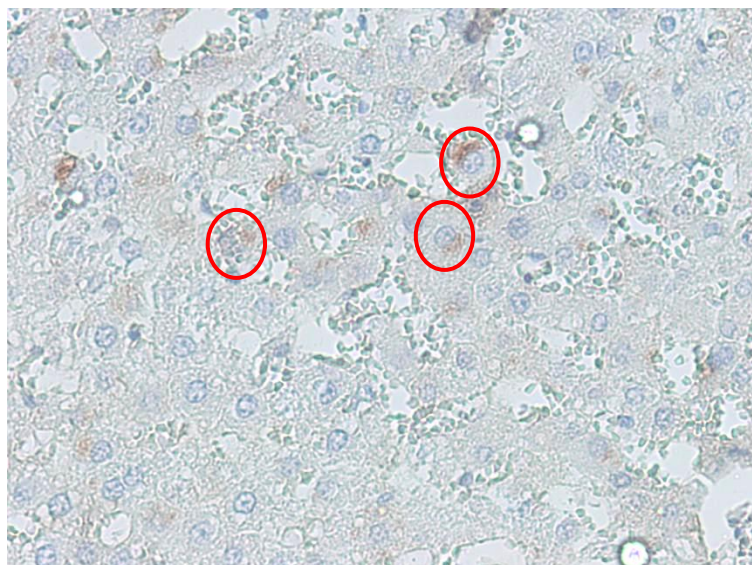


Рисунок 24 – c-kit (CD117) + ○ умеренная экспрессия (++) . Крыса. Самец 5 месяцев. ИГХ реакция на c-kit (CD117). Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×200.

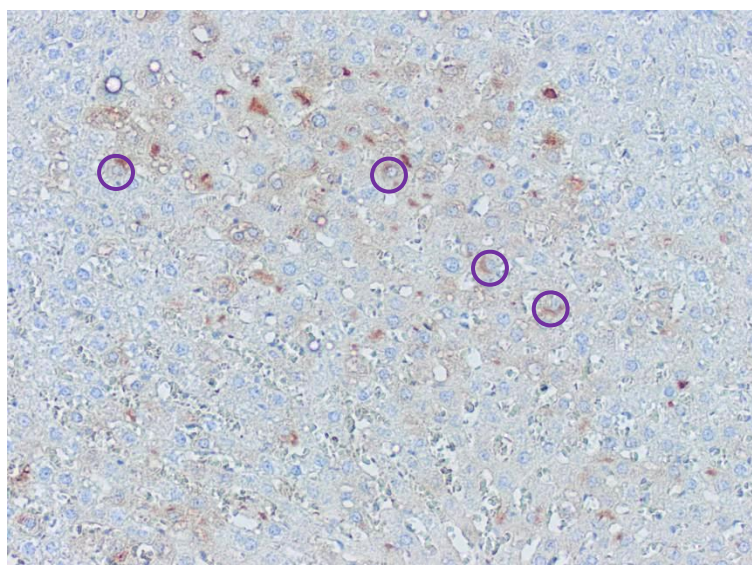


Рисунок 25 – c-kit (CD117) + ○ цитоплазматическая реакция. Крыса. Самец 11 месяцев. ИГХ реакция на c-kit (CD117). Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×100.

Иммунореактивный материал выпадает в виде конгломератов неправильных форм, перинуклеарно расположенных по отношению к ядру в виде плотных мелкозернистых гранул темно-коричневого цвета (рисунок 25).

Экспрессия паттерна α -SMA интенсивная (+++), иммунореактивный материал регистрируется тотально в цитоплазме гепатоцитов и мембране (рисунок 26).

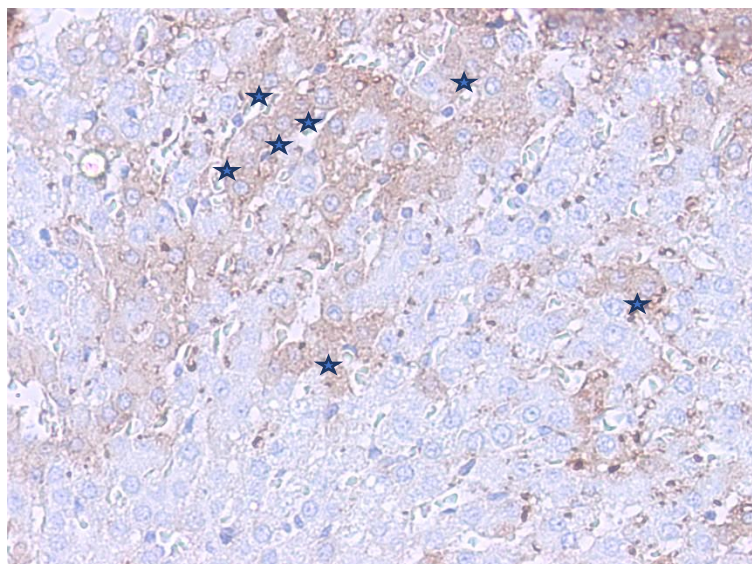


Рисунок 26 – α -SMA + ★ интенсивная (+++) цитоплазматическая реакция. Крыса. Самец 2 недели. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 100$.

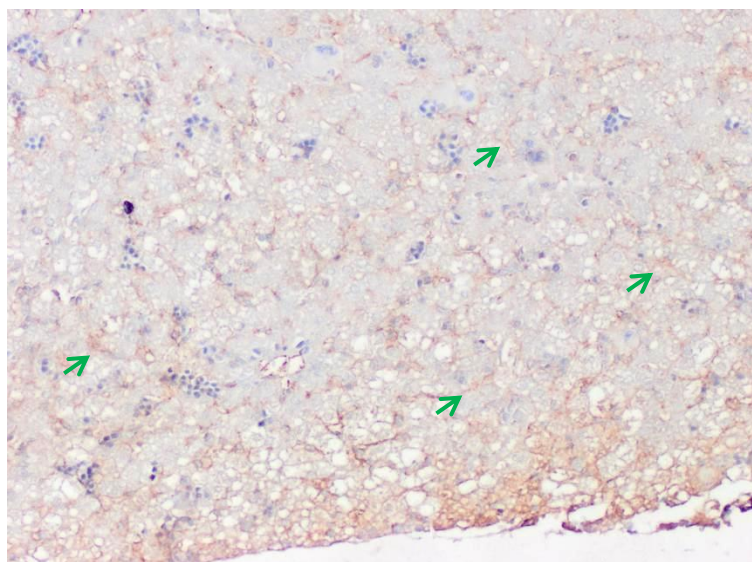


Рисунок 27 – α -SMA + ↑ мембранная реакция. Крыса. Самец 1 суки. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 100$.

DAВ-позитивное окрашивание идентифицировалось в виде крупных гранул темно-коричневого цвета (рисунок 27). Иногда регистрируется выпадение гранул вблизи мембраны или хаотично расположенных у ядра (рисунок 28).

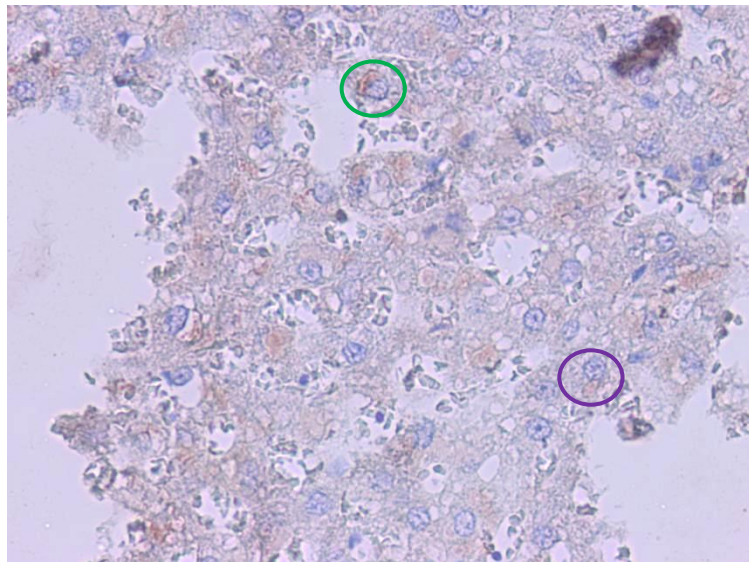


Рисунок 28 – α -SMA+Осадок вблизи мембраны.О Осадок вблизи ядра. Крыса. Самец 8 месяцев. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 100$.

Согласно результатам, представленным в таблице 5, экспрессия паттерна c-kit (CD117) наблюдается в 1-суточном, 2-месячном, 5-месячном, 6-месячном, 9-месячном и 11-месячном возрастах. Наивысшие значения показателя оптической плотности c-kit (CD117) отмечаются в 5-месячном возрасте и составляют 0,15. Экспрессия исследуемого белка в гепатоцитах, по нашему мнению, зависит от физиологической регенерации, когда с возрастом увеличивается количество полиплоидных гепатоцитов. Так же стоит отметить тот факт, что экспрессирующие c-kit (CD117) клетки являются малодифференцированными с высоким митотическим потенциалом. Согласно исследованиям И. А. Казаковой (2014) гепатоциты синтезируют имеющийся цитокин SCF в печени, что подтверждают полученные нами исследования.

Белок α -SMA экспрессирует в 1-суточном, 2-недельном, 6-месячном, 8-месячном, 9-месячном, 11-месячном и 12-месячном возрастах. Наивысший

показатель оптической плотности фосфопротеина отмечается в 2-недельном возрасте и составляет 1,003. По нашему мнению, это связано с тем, что в ранний постнатальный период гепатоциты могут быть функционально незрелыми. В 1-суточном возрасте все еще происходит дифференцировка гепатоцитов, которые характеризуются перестройкой клеточной архитектуры (таблица 5).

Таблица 5 - Оптическая плотность экспрессируемых гепатоцитов на 1мм²

Возраст крыс	с-kit (CD117)	Альфа-гладкомыше чный актин (α -SMA)
1 сутки (n=10)	0,008	0,75
2 недели (n=10)	-	1,003
2 месяца (n=10)	0,013	-
5 месяцев (n=10)	0,15	-
6 месяцев (n=10)	0,024	0,087
8 месяцев (n=10)	-	0,3
9 месяцев (n=10)	0,029	0,5
11 месяцев (n=10)	0,04	0,062
12 месяцев (n=10)	-	0,5

Опираясь на разработанный Wang B. et al. (2015) метод маркировки гепатоцитов в различных зонах печенной доли, мы обнаружили, что наивысшие значения оптической плотности нуклеолярных белков (NCL, B23, FBL) и маркера пролиферации (ki-67), а также маркеров гемопоэтического (с-kit (CD117)) и мезенхимального происхождения (α -SMA) были зафиксированы во II зоне долек.

Таблица 6 - Возрастные особенности распределения клеточных популяций и биомаркеров по зонам печёночной долики крыс, включая показатели ЯЦО гепатоцитов

Возраст	Биомаркер	1 зона дифференцированные гепатоциты, осуществляющие физиологические функции печени	2 зона прогениторные клетки и гепатоциты со свойством к трансдифференцировке	3 зона делящиеся гепатоциты, истинно стволовые клетки	ЯЦО гепатоцитов (M±m)
2 недели	α-SMA	11	20	32	0,4±0,12*
2 месяца	ki-67	1	6		0,15±0,056
5 месяцев	CD117	2	5	8	0,25±0,06
9 месяцев	α-SMA	8	10	12	0,2±0,041
11 месяцев	ki-67		1		0,22±0,05*
12 месяцев	CD117	3		10	0,3±0,06*
	ki-67	1	7	4	

Примечание: статистическая значимость различий (при $p \leq 0,05$) с более ранним возрастом обозначена *

Согласно данным таблицы № 6, II зона печёночной долики является ключевой областью для поддержания регенераторного потенциала печени и способности клеток к трансдифференцировке в физиологических условиях. Выявленные закономерности распределения маркеров пролиферации (ki-67), гемопоэтического (c-kit (CD117)) и мезенхимального (α-SMA) происхождения позволяют уточнить механизмы клеточного обновления. Этот процесс реализуется за счёт двух взаимосвязанных клеточных популяций: прогениторных клеток и трансдифференцированных гепатоцитов. В зонах I и III аналогичные клетки встречаются в единичных количествах, что подчёркивает функциональную специализацию различных компартментов печёночной долики, что отражено на рисунке 29.

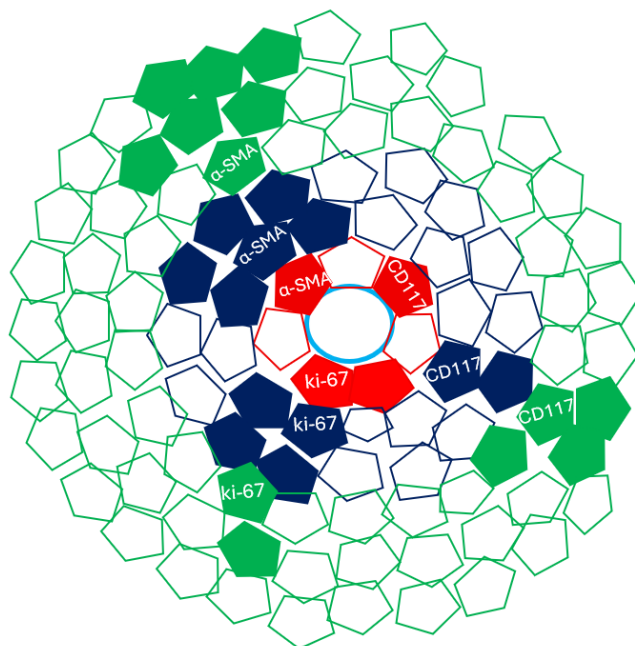


Рисунок 29 – Маркировка гепатоцитов, экспрессирующих белок пролиферации (ki-67), а также паттерны гемопоэтического и мезенхимального происхождения (с-kit (CD117); α -SMA), в различных зонах перипортальной области печеночной дольки.

Таким образом, функциональное значение особенностей экспрессии стволовых клеток гемопоэтического (с-kit (CD117)) и мезенхимального (α -SMA) происхождения заключается в их способности координированно участвовать в процессах мезотелиально-мезенхимального перехода и трансдифференцировки гепатоцитов.

Таким образом, это обеспечивает многоуровневую систему поддержания гомеостаза и регенераторного потенциала печени, адаптированную к различным физиологическим и патологическим условиям на протяжении всего постнатального развития.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате поэтапной интеграции различных методик изучения постнатального онтогенеза печени у крыс, было получено целостное представление о динамике структурно-функциональных изменений органа на разных этапах развития. Комплексный подход позволил не только зафиксировать морфологические трансформации, но и выявить молекулярные механизмы, лежащие в основе адаптации печени к меняющимся условиям функционирования в постнатальном периоде.

Анализ морфометрических показателей свидетельствует о том, что к 4-месячному возрасту гистологическая структура печени приобретает зрелую дольковую архитектуру, которая сохраняется на протяжении всего исследуемого периода.

В результате проведения статистического анализа было установлено, что для площади печёночных долек характерна волнообразная динамика, отражающая процессы адаптации и ремоделирования ткани в условиях постнатального онтогенеза. Ядерно-цитоплазматическое отношение гепатоцитов остаётся стабильно высоким на всех исследованных этапах (от 1-суточного до 12-месячного возраста), что свидетельствует о сохранении высокой функциональной активности клеточных элементов печени.

Исследованиями уточнены данные о распределении и экспрессии маркеров пролиферации (ki-67) и стволовых клеток (c-kit (CD117); α -SMA) в разных зонах печёночных долек. Максимальные значения оптической плотности вышеуказанных белков выявлены во II зоне печёночных долек.

В процессе выполнения диссертационной работы впервые изучена функциональная значимость выявленных особенностей экспрессии стволовых клеток (c-kit (CD117); α -SMA), которая определяется их участием в процессах мезотелиально-мезенхимального перехода и трансдифференцировки гепатоцитов, что обеспечивает поддержание тканевого гомеостаза и регенераторного потенциала печени в условиях постнатального онтогенеза.

Проведенные исследования позволяют существенно расширить современные представления о морфологических, морфометрических и иммуногистохимических особенностях печени крыс в возрастном аспекте. Полученные данные уточняют хронологию формирования зрелой структуры органа, выявляют ключевые зоны регенераторного резерва и раскрывают молекулярные механизмы поддержания функциональной активности гепатоцитов на разных этапах онтогенеза. Это создаёт научную основу для понимания закономерностей развития печени и её способности к восстановлению после повреждения.

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы и представить рекомендации по их практическим предложениям и дальнейшим перспективам разработки темы.

Выводы:

1. К 4-месячному возрасту микроанатомическая структура печени крыс достигает завершённой организации, формируя стабильную дольковую архитектуру. В последующем, в период с 4 до 12 месяцев, существенных изменений в архитектонике органа не наблюдается, что свидетельствует о достижении функциональной зрелости печёночной ткани к указанному возрастному рубежу.

2. Морфометрический анализ площади печёночных долек у крыс в постнатальном периоде выявил её волнообразную динамику. В 1-суточном возрасте показатель составляет $6,6 \pm 1,89$ мкм², к 1-недельному возрасту снижаются на 20,91% ($p \leq 0,05$), а к 2 неделям - на 73,95% ($p \leq 0,05$) до $1,36 \pm 2,11$ мкм². В 3 недели его значение возрастает в 3,0 раза, но к 1 месяцу вновь снижается на 67,85% ($p \leq 0,05$). В 2 месяца фиксируется рост в 5,0 раз, а в 3 месяца - снижение на 48,57% ($p \leq 0,05$). К 4 месяцам площадь долек уменьшается на 9,72% ($p \leq 0,05$), а затем к 5 месяцам возрастает на 84,62% ($p \leq 0,05$). В 6 месяцев отмечается незначительное повышение на 1,0% ($p \leq 0,05$) - до $6,06 \pm 2,64$ мкм². Далее, в 7 месяцев, площадь увеличивается на 23,1% ($p \leq 0,05$), а в 8 месяцев - на 28,69% ($p \leq 0,05$), в 9 месяцев снижается на 22,6% ($p \leq 0,05$) и слегка растёт на 3,1%

($p \leq 0,05$). К 10 месяцам показатель падает на 50,39% ($p \leq 0,05$), а в 12 месяцев фиксируется небольшое повышение на 13,16% ($p \leq 0,05$).

3. Морфометрический анализ значений ЯЦО гепатоцитов выявил его динамичные изменения в постнатальном периоде. В 1-суточном возрасте показатель составляет $0,2 \pm 0,07$. До 3-недельного возраста наблюдается его рост в 2,8 раза ($p \leq 0,05$), после чего в 1 месяц фиксируется снижение на 77,5% ($p \leq 0,05$). В последующие месяцы отмечается постепенная динамика: повышение на 17,9% ($p \leq 0,05$) в 2 месяца и на 6,67% ($p \leq 0,05$) в 3 месяца. В 4 месяца ЯЦО возрастает на 56,25% ($p \leq 0,05$) и сохраняется на этом уровне до 5 месяцев, а к 6 месяцам увеличивается ещё на 20,0% ($p \leq 0,05$). С 7 месяцев начинается снижение: на 23,33% ($p \leq 0,05$) в 7 месяцев и на 13,04% ($p \leq 0,05$) в 8 месяцев, с сохранением значений до 9 месяцев возраста. В 10 месяцев показатель уменьшается на 20,0% ($p \leq 0,05$), а с 11 до 12 месяцев отмечается рост на 36,36% ($p \leq 0,05$) – итоговое значение достигает $0,3 \pm 0,06$.

4. Наивысшие значения оптической плотности нуклеолина (NCL), нуклеофозмина (B23), фибрилларина (FBL) и маркера пролиферации (ki-67) у крыс наблюдаются в 2-недельном, 8-месячном, 10-месячном и 9-месячном возрастах соответственно. Так, экспрессия паттерна нуклеолина (NCL) в 2-недельном возрасте составляет 0,34.

5. Экспрессия маркеров области ядрышковых организаторов нуклеолина (NCL), нуклеофозмина (B23) и фибрилларина (FBL) у крыс наблюдались в иммунопозитивных участках, оцениваемые от слабого (1+) до сильного (3+) окрашивания, больше 10% площади материала. Иммунопозитивные клетки обнаруживались в цитоплазме, ядре и ядрышке.

6. Экспрессия маркеров альфа-гладкомышечный актин (α-SMA) и c-kit (CD117) у крыс наблюдались в иммунопозитивных участках, оцениваемые от умеренного (2+) до интенсивного (3+) окрашивания, больше 10% площади материала. Маркеры визуализировались перинуклеарно и вблизи мембраны.

7. Во II зоне печеночных долек регистрируются максимальные значения оптической плотности ki-67, c-kit (CD117), а также α-SMA. В зонах I и III

аналогичные клетки определяются в единичных количествах. Экспрессия гемопоэтических (c-kit (CD117)) и мезенхимальных (α -SMA) стволовых клеток регулирует мезотелиально-мезенхимальный переход и трансдифференцировку гепатоцитов, поддерживая гомеостаз и регенерацию печени в ходе постнатального развития при различных физиологических и патологических состояниях.

Практические предложения

1. Представленные новые данные о постнатальном онтогенезе и динамичных морфометрических изменениях расширяют фундаментальные знания и могут служить референтной базой для исследований в области биологии, гепатологии, анатомии, гистологии, морфологии, физиологии, патоморфологии и патофизиологии, а также для понимания заболеваний печени у лабораторных животных.

2. Результаты исследований экспрессии нуклеолярных белков (NCL, B23, FBL), а также маркера пролиферативной активности (ki-67) могут служить основой для разработки инновационных методов диагностики и терапии, основанных на применении клеточных технологий.

3. Результаты исследований мезотелиально-мезенхимального перехода и трансдифференцировки можно использовать для понимания молекулярно-генетических основ в регенерации печени в физиологических и в патологических состояниях в области биологии и хирургии как ветеринарной, так и гуманной медицины.

4. Полученные результаты могут найти применение в научных исследованиях, а также в образовательном процессе вузов и колледжей биологического профиля. Кроме того, они могут быть использованы при подготовке монографий, учебных и справочных пособий, посвящённых возрастной, видовой, морфофункциональной и молекулярной морфологии различных видов животных.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы

Результаты проведённых исследований позволили существенно дополнить современные представления о морфометрических характеристиках и морфофункциональных параметрах печени, а также раскрыть отдельные аспекты её регенеративного потенциала, включая механизмы трансдифференцировки гепатоцитов. Полученные данные расширяют понимание клеточных и тканевых процессов, обеспечивающих структурно-функциональную пластичность органа в физиологических условиях.

Перспективным направлением дальнейших научных изысканий представляется комплексное изучение физиологических закономерностей функционирования гепатобилиарной системы у различных видов животных. Это позволит выявить эволюционно консервативные и видоспецифичные механизмы регуляции регенераторных процессов, уточнить роль клеточной пластичности в поддержании тканевого гомеостаза и заложит основу для сравнительного анализа адаптивных возможностей печени в разных биологических моделях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанова, Л. С. С-kit позитивные клетки в мышечной оболочке желудка крысы / Л. С. Агаджанова, Т. А. Румянцева, В. В. Румянцева // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8. – № 1. – С. 18 – 20.
2. Анисимова, К. А. Гистологические особенности печени новорожденных поросят породы ландрас / К. А. Анисимова, Н. В. Зеленовский, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 1. – С. 316–319.
3. Бачинская, В. М. Гистоморфологические показатели печени перепелов при применении в рационе кормовой добавки с l-карнитином / В. М. Бачинская, Д. В. Гончар, Е. С. Сорокина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2025. – Т. 1. – № 4. – С. 73–81.
4. Бобрышева, А. А. Особенности строения печени крыс в условиях высокоуглеводной диеты после экспериментального моделирования гепатобилиарных расстройств / А. А. Бобрышева, Луганский Д. Е., Бобрышева И. В. – 2025. – Т. 23. – № 2. – С. 23–26.
5. Боташева, В. С. Показатели областей ядрышковых организаторов гепатоцитов при экспериментальном тиреотоксикозе / В. С. Боташева, Н. А. Стадник // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – № 4. – С. 24–30.
6. Бурганова, Г. Р. CD34, α -SMA и BCL-2 как маркеры эффективности трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток больным алкогольным циррозом печени / Г. Р. Бурганова, С. Р. Абдулхаков, А. А. Гумерова [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2012. – №9. – С. 16–22.
7. Великородная, Ю. И. Динамика изменений виментина и гладкомышечного актина при экспериментальном фиброзе печени химического генеза / Ю. И. Великородная, А. Я. Почепцов // Вестник ВолГМУ. – 2014. – №3(51). – С. 55–58.
8. Взаимосвязь морфо-биохимических показателей, как инструмент повышения эффективности диагностики заболеваний печени у

высокопродуктивных коров / И. А. Шкуратова, Л. И. Дроздова, А. И. Белоусов, А. С. Красноперов // Известия Международной академии аграрного образования. – 2023. – № 1 (57). – С. 128–134.

9. Влияние биомассы спирулины в составе комбикорма на динамику живой массы и морфометрические показатели печени цыплят-бройлеров / О. А. Матвеева, Т. Я. Вишневская, М. М. Жамбулов, Н. А. Захарова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2023. – № 3 (101). – С. 280–284.

10. Гайдай, Е. А. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля / Е. А. Гайдай, Д. С. Гайдай // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – № 4. – 16–30 с.

11. Галченко, Л. И. Регенерация печени при травмах, резекциях и некоторых очаговых поражениях / Л. И. Галченко, А. Н. Калягин, И. А. Павлюк // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №2. – С. 34–38.

12. Гамбарян, П. П. Крыса / П. П. Гамбарян, Н. М. Дукельская // Москва: Современная наука. – 1955. – С. 254.

13. Гистологические изменения в печени крыс при интермиттирующем введении карбофоса и возможность их коррекции витамина А и Е / М. В. Мужиченко, Е. Ю. Надежкина, М. Г. Маринина [и др.] // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. – 2025. – № 6. – С. 171–173.

14. Гистологические изменения печени крыс при воздействии пищевых консервантов на фоне хронического стресса / Д. О. Каримов, Ю. В. Рябова, Д. Д. Каримов, [и др.] // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2025. – № 3. – С. 154–164.

15. Гистологические изменения печени у цыплят / Ю. А. Колина, Н. В. Момот, И. Л. Камлия [и др.] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2025. – № 6. – С. 132–135.

16. Головченко, В. В. Морфологические особенности роста печени перепелов пород фараон и техасская / В. В. Головченко, В. В. Лемещенко // Вестник КрасГАУ. – 2022. – № 9 (186). – С. 184–190.
17. Горяинова, Н. В. Экспрессия cd117 на бластных клетках при острой миелоидной лейкемии / Н. В. Горяинова, Н. В. Горяинова, В. А. Кубарова // Медичні перспективи. – 2015. – №3. – С. 73–79.
18. Данников, С. П. Активность областей ядрышковых организаторов в ядрах подоцитов почечных клубочков у нутрий в постнатальном онтогенезе / С. П. Данников, А. Н. Квочко // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2019. – №3. – С. 27–36.
19. Джадранов, Е. С. Возрастные морфологические особенности печени и щитовидной железы беспородных лабораторных крыс / Е. С. Джадранов, М. Ж. Ергазина, З. Н. Джангельдина, А. В. Красноштанов // Вестник КазНМУ. – 2015. – №3. – С. 220–222.
20. Диагностическое и прогностическое значение ядрышковых белков в регуляции пролиферации опухолевых клеток у больных с карциномой легких и аденокортикальным раком / Н. Т. Райхлин, И. А. Букаева, Е. А. Смирнова, А. В. Филимонюк – Вестник РУДН. – 2012. – №4. – С. 99–103.
21. Дилекова, О. В. С-KIT/SCF-R эндокриноцитов поджелудочной железы крупного рогатого скота/ О. В. Дилекова // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. - № 1. – С. 29 – 33.
22. Дилекова, О. В. С-kit-позитивные клетки поджелудочной железы крупного рогатого скота / О. В. Дилекова // Материалы симпозиума с международным участием, посвященного 90–летию со дня рождения выдающегося ученого профессора П. Ф. Степанова: Актуальные вопросы морфологии. Смоленск, 2014. - С. 23.
23. Дилекова, О. В. Структурно-функциональные особенности поджелудочной железы домашних животных в постнатальном онтогенезе: специальность – 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология,

онкология и морфология животных: дис. ... докт. биол. наук / О. В. Дилекова. – Ставрополь, 2017. – 405 с.

24. Дроздова Л. И. Патоморфология кандидамикоза в печени у рептилий / Л. И. Дроздова, Е. И. Попков, Г. А. Горошникова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 1 (57). – С. 128–134.

25. Дроздова, Л. И. Морфологические изменения в печени коз при концентратном типе кормления / Л. И. Дроздова, В. Е. Шакиров, Н. И. Женихова // Иппология и ветеринария. – 2021. – № 4 (42). – С. 61–66.

26. Ельчанинов, А. В. Пролиферативная активность гепатоцитов регенерирующей печени плода / А. В. Ельчанинов, Г. Б. Большакова, А. Г. Бабаева // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2012. – № 1. – С. 35–37.

27. Ельчанинов, А. В. Размер гепатоцитов и их ядер в регенерирующей фетальной печени крыс / А. В. Ельчанинов, Г. Б. Большакова // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И. П. Павлова. – 2011. – №2. – С. 34–38.

28. Жамбулов М. М. Влияние кормовой добавки на основе сушёной личинки *hermetia illucens* на морфологические показатели гепатоцитов крыс / М. М. Жамбулов, Т. Я. Вишневская // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2025. – № 6 (116). – С. 166–171.

29. Журов, Д. О. Гистоархитектоника, морфометрические и иммуногистохимические изменения в печени цыплят в условиях антигенной нагрузки и при применении митофена / Д. О. Журов // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2021. – Т. 57. – № 4. – С. 23–28.

30. Иваниди, М. С. Морфометрические показатели печени крыс в процессе постнатального развития / М. С. Иваниди, О. В. Дилекова // Аграрный вестник Северного Кавказа. – 2024. – № 2 (54). – С. 8–12.

31. Иваниди, М. С. Морфофункциональная оценка α -sma⁺ и c-kit⁺ печени крыс в постнатальном онтогенезе / М. С. Иваниди // Иппология и ветеринария. – 2025. – № 1 (55). – С. 79–84.
32. Иваниди, М. С. Роль нуклеолярных белков и маркера пролиферативной активности в постнатальном развитии печени / М. С. Иваниди, О. В. Дилекова, В. В. Митенко // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2025. – №1 (111). – С. 188–193.
33. Изменение морфофункционального состояния печени под воздействием акриламида и на фоне коррекции комплексными соединениями оксиметилурацила в динамике / Н. Ю. Хуснутдинова, Ю. В. Рябова, Т. Г. Якупова [и др.] // Токсикологический вестник. – 2025. – Т. 33. – № 6. – С. 417–425.
34. Иммуногистохимическая экспрессия ki-67 и p53 при колоректальном раке и ее связь с клинико-лабораторными показателями / Б. С. Халмедов, Г. А. Тошиева, Дж. Б. Ламанова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2026. – Т. 71. – № 4. – С. 377–381.
35. Казакова, И. А. Механизмы влияния макрофагов на репаративную регенерацию: специальность 03.03.01 – физиология: автореф... дис. канд. биол. наук / И. А. Казакова. – Екатеринбург, 2014. – 26 с.
36. Кравченко, А. С. Особенности гистологического строения печени осетровых в искусственно созданных условиях выращивания в установках замкнутого водоснабжения / А. С. Кравченко, И. А. Ландыш // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2025. – № 3 (71). – С 190–196.
37. Крыса как модельный объект в биологии и экспериментальной медицине / А. А. Бердникова, С. В. Авдеева, Е. А. Горемыкина, Д. Х. Сабилов // Материалы IX Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». – 2017.
38. Лабораторные крысы: содержание, разведение и биоэтические аспекты использования в экспериментах по физиологии поведения: учебное

пособие / В. И. Беляков, Е. М. Инюшкина, Д. С. Громова, А. Н. Инюшкина// – Самара: Издательство Самарского университета. – 2021. – С. 96.

39. Лебедева, Е. И. Качественные и количественные показатели содержания гликогена в печени крыс в динамике развития токсического цирроза / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец // Журнал ГрГМУ. – 2015. – № 1 (49). – С. 31–35.

40. Лебедева, Е. И. Морфологические изменения сосудистой системы печени крыс под воздействием тиацетамида / Е. И. Лебедева // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2021. –Т.19 –№3. – С. 285–293.

41. Лебедева, Е. И. Морфофункциональная оценка far^+ и $\alpha\text{-sm}\alpha^+$ -клеток в различные сроки токсического фиброза печени у крыс / Е. И. Лебедева // Морфологические ведомости. – 2023. –Т. 31. – № 3. – С. 14–22.

42. Лемещенко, В. В. Динамика морфометрических показателей печени перепелов в возрастном аспекте / В. В. Лемещенко, В. В. Головченко // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. – 2021. – № 28 (191). – С112–117.

43. Магнитная сепарация с использованием суперпарамагнитных частиц с антителами iso0406 к cd117 / А. В. Пономарёв, А. Е. Бармашов, А. М. Дёмин, [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2016. –№1. – С. 89

44. Манаков, А. М. Морфологические и морфометрические показатели печени самцов новорожденных кроликов / А. М. Манаков, С. М. Завалеева // Ветеринарная патология. – 2024. –Т. 23. – № 3. – С. 41–48.

45. Манушарова, Р. А. Синдром гиперандрогении у женщин / Р. А. Манушарова, Э. И. Черкезова // МС. – 2009. – №3. – С. 19–24.

46. Марковец, Н. И. Морфологические особенности печени потомства крыс от самок с холестазом, вызванным во время беременности: специальность 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология: автореф... дис. канд. биол. наук / Н. И. Марковец. – Минск, 2016. – 26 с.

47. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей / Н. И. Калинина, В. Ю. Сысолева, К. А. Рубина, [и др.] // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2011. – №4. – С. 32–38.

48. Милуков, В. Е. Современные представления о морфофункциональной организации сосудистого русла печени / В. Е. Милуков, Х. М. Шарифова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – №16 (4). – С. 4–10.
49. Миронова, О. А. Влияние кормов с микотоксинами, подвергнутых микробиологической ферментации, на морфологические показатели печени свиней / О. А. Миронова, Х. А. Амерханов, А. А. Миронова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2025. – Т. 2. – № 10. – С. 87–98.
50. Митенко, В. В. Экспрессия онкомаркерных белков в опухолевых клетках иолочных желез у кошек / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Ветеринарная патология. – 2022. – №3 (81). – С. 45–51.
51. Моноклональные антитела iso-406 против антигена CD117 / Н. В. Голубцова, О. С. Бурова, К. А. Барышников, [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2015. – №2. – С. 99–104.
52. Морфологические изменения тканей печени лабораторных крыс при воздействии экотоксикантов и при перинатальной профилактике / О. С. Чуйкин, Л. А. Мусина, Э. Х. Галиахметова, [и др.] // Морфология. – 2022. – Т. 160. № 4. – С. 215–224.
53. Онкопротеин нуклеофозмин/B23 при светлоклеточном раке почки: взаимосвязи с клинко-анатомическими факторами прогноза / И. П. Бобров, М. Н. Мяделец, И. В. Климачев, [и др.] // Бюллетень медицинской науки. – 2019. – № 1 (13). – С. 26–32.
54. Особенности структуры печени мышей после введения препаратов, модулирующих аутофагию, в условиях экспериментальной меланомы / Е. А. Тельпуховская, М. А. Карпов, Н. П. Бгатова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2026. – Т. 181. – № 1. – С. 86–90.
55. Оценка трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга у пациентов с циррозом печени, вызванным вирусом гепатита с (пилотное исследование) // Архивъ внутренней медицины. –2021. –№2 (58). – С. 132–145.

56. Патоморфологические изменения в печени овцы при эхинококкозе / С. Н. Насыров, Р. Ш. Тайгузин, Т. А. Вишневская [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2022. – № 1 (93). – С. 156–161.
57. Патоморфологические изменения в печени экспериментальных животных и их коррекция при тиацетамид-индуцированном повреждении / Э. Ф. Репина, Д. Д. Каримов, Хуснутдинова Н. Ю. [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2026. – Т. 70. – №1. – С. 123–133.
58. Плеханов, А. Н. Регенерация печени: решенные и проблемные вопросы (сообщение 2) / А. Н. Плеханов, А. И. Товаршинов // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2021. – № 2. – С. 88–93.
59. Полуколичественная оценка распределения частиц микропластика различного размера в печени крыс / А. О. Хмель, Э. Р. Кудояров, Я. В. Валова [и др.] // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2025. – Т. 61. – № 4. – С. 81–85.
60. Понкратова, Д. А. О роли нуклеофозмина в функционировании клеток и в опухолевой прогрессии / Д. А. Понкратова, А. А. Лушникова // Успехи современной биологии. – 2019. – Т. 139. – № 6. – С. 562–576.
61. Постнатальное развитие потомства крыс от самок, получавших препарат нейроглютам в период беременности / Л. И. Бугаёва, Т. Д. Денисова, И. Н. Тюренков, [и др.] // Вестник ВолгГМУ. – 2018. – №3 (67) – С. 33–36
62. Прозоровский, И. Е. Морфофункциональная характеристика печени у японских перепелов. И. Е. Прозоровский, Г. А. Ветошкина, С. Б. Селезнев // Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса. – 2025. – № 2 (64). – С. 41–45.
63. Протасова, Г. А. Коррекция токсического поражения печени стволовыми клетками // Г. А. Протасова, Л. В. Шабашева, В. Б. Попов // Токсикологический вестник. – 2020. – №4 (263). – С. 21–25.

64. Синдирева, А. В. Функциональные особенности печени / А. В. Синдирева, С. А. Пашаян, М. В. Михайлова // Вестник КрасГАУ. – 2024. – № 9 (210). – С. 121–127.
65. Скрипкин, В. С. Морфологические и функциональные особенности постнатального онтогенеза молочной и щитовидной желез овец и свиней: специальность – 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных; 06.02.06 – ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных: дис. ... докт. биол. наук / В. С. Скрипкин. – Ставрополь, 2022. – 503 с.
66. Состояние глюконеогенной функции печени собак, больных сахарным диабетом / М. П. Колесников, Н. А. Пудовкин, А. М. Терновая [и др.] // Аграрный научный журнал. – 2025. – № 5. – С. 50–53.
67. Структурная организация печени новорожденных поросят / Е. В. Михайлов, Д. А. Пастухова, Ю. О. Пономарева [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2021. – № 1 (14). – С138–145.
68. Сухова, Т. И. Нуклеазная активность цитоплазматических рибосом гепатоцитов и некоторых экспериментальных гепатоом / Т. И. Сухова, В.С. Шапот, Г. Д. Кречетова // Бихимия. – 1978. – №43 (10). – С. 1838–1844.
69. Тайгузин, Р. Ш. Ультраструктурные особенности строения тёмных и светлых гепатоцитов козы оренбургской породы / Р. Ш. Тайгузин, А. Н. Масабаева, С. Т. Сакирова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2025. – № 5 (115). – С173–177.
70. Фёдорова, А. О. Морфометрическая характеристика печени индейки в период роста в Амурской области / А. О. Фёдорова, В. А. Михайлов // Вестник КрасГАУ. – 2025. – № 8 (221). – С. 193–203.
71. Фенотипически обусловленная дисфункция печени крыс вистар при моделировании посттравматического стрессового расстройства / М. В. Кондрашевская, К. А. Артемьева, В. В. Алексанкина, [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2022. – Т. 58. – №4. – С. 323–332.

72. Хакимов, А. Р. Морфометрическая характеристика клеток печени эмбрионов крыс на фоне воздействия наночастиц диоксида титана в антенатальный период развития / А. Р. Хакимов, А. М. Фёдорова, А. И. Лебедева // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2025. – Т. 69. – № 2. – С. 70–78.
73. Цитотоксичные катионные пептиды как лиганды рецепторного нуклеолина / А. А. Лушникова, А. В. Костарев, Д. А. Понкратов, [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – 2018. – № 5(3). – С. 59–64.
74. Черезова, А. В. Морфометрическая характеристика ультраструктурной организации печени плодов собаки домашней / А. В. Черезова, С. Д. Андреева // Иппология и ветеринария. – 2026. – №1 (59). – С. 78–83.
75. Яковлева, Е. Г. Гистологическая картина печени при фитотоксикозе у телят / Е. Г. Яковлева, В. В. Дронов // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2022. – № 1 (23). – С. 30–35.
76. Ярмолук, Н. С. Морфометрические показатели печени крыс с аллоксан-индуцированным диабетом при введении пробиотического микробного консорциума / Н. С. Ярмолук, Э. Р. Джелдубаева, В. С. Ржевская // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2025. – Т. 11. – № 3. – С. 264–272.
77. Advances in the structure and function of the nucleolar protein fibrillarin / X. Zhang, W. Li, Sh. Sun, Y. Liu. – DOI: 10.3389/fcell.2024.1494631 // Frontiers in Cell and Development Biology. – 2024. – Vol. 12. – P. 1-15.
78. Age-dependent morphometric reactions in the liver of rats / M. Ivanidi, O. Dilekova. M. Shchipakin, I. Ziruk // Innovations in Sustainable Agricultural Systems, Agriculture 4.0 and Precision Agriculture. Volume 1. Conference Proceedings. – 2026. – P. 539-546.
79. Baquerre, C. Liver organoids in domestic animals: an expected promise for metabolic studies / C. Baquerre, G. Montillet, B. Pain. –DOI: 10.1186/s13567-021-00916-y // Veterinary research. – 2021. –Vol. 52 (1). – P. 47.

80. Binding of cellular nucleolin with the viral core RNA G-quadruplex structure suppresses HCV replication / B. Wen-Xiu, Y. Xie, X. Wang, [et al.]. – DOI: 10.1093/nar/gky1177 // *Nucleic Acids Res.* -2019. – Vol.47 (1). – P. 56–68.
81. Brodská, B. Nucleophosmin in leukemia: Consequences of anchor loss / B. Brodská, M. Šašínková, K. Kuželová // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2019. – №111. – P. 52–62.
82. Chen, Z. Roles of nucleolin. Focus on cancer and anti-cancer therapy / Z. Chen, X. Xu // *Saudi Med J.* – 2016. – № 37 (12). – P. 1312–1318.
83. Construction of a general albumin promoter reporter system for real-time monitoring of the differentiation status of functional hepatocytes from stem cells in mouse, rat and human / J. Tang, Q. Wu, Y. Li, [et al.]. - DOI: 10.3892/br.2017.905 // *Biomed Rep.* – 2017. – Vol.6 (6). – P. 627– 632.
84. Expression and clinicopathological correlation of ki-67 in gallbladder carcinoma / A. Gepta, S. Gupta, D. Rajput, [et al.]. - DOI: 10.4103/jcar.JCar_9_21 // *J. of Carcinogenesis.* – 2021. – Vol.20(1). – P.
85. Fibrillarin methylates H2A in RNA polymerase I trans-active promoters in brassica oleracea / Ll. Loza-Muller, U. Rodriguez-Corona, M. Sobol, [et al.]. - DOI: 10.3389/fpls.2015.00976 // *Front Plant Sci.* – 2015. – Vol.6. – P. 976.
86. Genomic organization and chromosomal location of the human nucleolin gene / M. Srivastava, O. W. McBride, P. J. Fleming, [et al.] // *Journal of Biological Chemistry.* – 1990. – Vol.265(25). –P.14922-14931.
87. Happer's Biochemistry / R. K. Marry, D. K. Granner, P. A. Mayes, V. W. Rodwell // *California.* – 1988. – Vol.2. –P.414
88. Hepatic adaptations to maintain metabolic homeostasis in response to fasting and refeeding in mice / C. E. Geisler, C. Helper, M. R. Higgins, B. J. Requist. - DOI: 10.1186/s12986-016-0122-x // *Nutr Metab.* –2016. – Vol. 13 (62). –P. 455–457.
89. Humoral autoimmune response to nucleophosmin in the immunodiagnosis of hepatocellular carcinoma / M. Liu, J. Li, L. Dai, [et al.]. - DOI: 10.3892/or.2015.3854 // *Oncology Reports.* – 2015. – Vol. 33 (5). – P. 2245–2252.

90. Importance rat liver morphology and vasculature in surgical Research / K. Vdoviaková, E. Petrovova, L. Krešáková, [et al.]. - DOI: 10.12659/msm.899129 // Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research. – 2016. – Vol.22. – P. 4716-4728.
91. Increased fibrillarin expression is associated with tumor progression and an unfavorable prognosis in hepatocellular carcinoma / J. Zhang, G. Yang, Q. Li, F. Xie. - DOI: 10.3892/ol.2020.12353 // Oncol Lett. – 2020. – Vol.21 (2). – P. 895–905.
92. Increased level of nucleolin confers to aggressive tumor progression and poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy / X. Guo, L. Xiong, L. Yu, [et al.]. - DOI: 10.1186/s13000-014-0175-y // Diagn Pathol. – 2014. – Vol.175. – P. 1014–1022.
93. Intrahepatic vascular anatomy in rats and mice – variations and surgical implications / C. Sängler, A. Schenk, L. O. Schwen, [et al.]. - DOI: 10.1371/journal.pone.0141798 // PLoS One. –2015. – Vol 10 (11). – P. 197–211.
94. Jaramillo S. Mice and rats achieve similar levels of performance in an adaptive decision-making task / S. Jaramillo, A. M. Zador. - DOI: 10.3389/fnsys.2014.00173 // Front Syst Neurosci. – 2014. –Vol. 8. – P. 224–247.
95. Kawada, N. Cytoglobin as a marker of hepatic stellate cell-derived myofibroblasts / N. Kawada. - DOI: 10.3389/fphys.2015.00329 // Frontiers in Physiology. – 2015. –Vol. 6. – P. 329 - 341.
96. Ki-67 is necessary during DNA replication for fork protection and genome stability / K. Stamatiou, F. Huguet, L. Serapinas, [et al.]. - DOI: 10.1186/s13059-024-03243-5 // Genom Biology 25. – 2024. – Vol.105. – P. 275–290.
97. Kim E. Phase transition of fibrillarin LC domain regulates localization and protein interaction of fibrillarin / E. Kim, I. Kwon. - DOI: 10.1042/BCJ20200847 // Biochem J. – 2021. – Vol.478(4). – P. 799–810.
98. Kohno Y. The effect of human milk on DNA synthesis of neonatal rat hepatocytes in primary culture / Y. Kohno, K. Shiraki, T. Mure. - DOI: 10.1203/00006450-199103000-00006// Pediatr Res. – 1991. – Vol.29 (3). – P.251–255.

99. *Lactococcus lactis* D4 decreases NF- κ B and α -SMA in rat models of obstructive jaundice / A. Suchitra, A. Alvarino et al. // *The Indonesian biomedical journal*. – 2024. – Vol.16(6). – P. 540–545.
100. Liver cell therapies: cellular sources and grafting strategies / W. Zhang, Y. Cui, Y. Du, [et al.]. - DOI: 10.1007/s11684-023-1002-1 // *Front Med*. – 2023. – Vol.17 (3). – P. 432-457.
101. López, D.J. Nucleophosmin, a multifunctional nucleolar organizer with a role in DNA repair / D.J. López, J.A. Rodríguez, S. Bañuelos // *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*. – 2020. – T. 1868. - Vol. 12. – P. 140532.
102. Maldonado-Rengel, R. Alterations of liver morphology in senescent rats / R. Maldonado-Rengel, Z. Socola-Barsallo, B. Vasquez. - DOI: 10.3390/ijms25189846 // *Int J Mol Sci*. – 2024. – Vol.25 (18). – P. 9846.
103. METTL16 promotes liver cancer stem cell self-renewal via controlling ribosome biogenesis and mRNA translation / M. Xue, L. Dong, H. Zhang, [et al.]. - DOI: 10.1186/s13045-024-01526-9 // *J Hematol Oncol*. – 2024. – Vol. 17 (7). – P. 911–923.
104. Multifaceted deregulation of gene expression and protein synthesis with age / A. S. Anisimova, M. B. Meerson, M. V. Gerashchenko, [et al.]. - DOI: 10.1073/pnas.2001788117 // *PNAS*. – 2020. – Vol.117 (27). – P.15581-15590.
105. Multifunctional neuron-specific enolase: its role in lung diseases / C. M. Xu, Y. L. Luo, S. Li, [et al.]. - DOI: 10.1042/BSR20192732 // *Bioscience Reports*. – 2019 – Vol.39 (11). – P.911-916.
106. Multifaceted Nucleolin Protein and Its Molecular Partners in Oncogenesis / I. Ugrinova, M. Petrova, M. Chalabi–Dchar, P..Bouvet // *Adv Protein Chem Struct Biol*. – 2018. – Vol. 111. – P. 133–164.
107. New perspectives of physiological and pathological functions of nucleolin (NCL) / W. Jia, Z. Yao, J. Zhao [et al.] // *Life Sci*. – 2017. – T. 1, 186. – P. 1–10.
108. NOTCH1- and CD117-positive stem cells in human endometriosis and adenomyosis lesions / D. Metodiev, D. Parvanov, M. Ruseva, [et al.]. - DOI: 10.3390/diagnostics14151642 // *Diagnostics*. – 2024. – Vol.14 (15). – P. 1642.

109. Nucleolin regulates the proliferation of vascular smooth muscle cells in atherosclerotic via Aurora B / H. Sun, L. Huang, P. Liang [et al.] // J Cell Mol Med. – 2021. – №25(2). – P. 751–762.
110. Nucleolin-RNA interaction modulates rotavirus replication / J. Hernandez-Guzman, C. Arias, S. Lopez, C. Sandoval-Jaime. - DOI: 10.1128/jvi.01677-23 // J. Virol. – 2024. – Vol. 98(2). – P.1–24.
111. Nucleophosmin: from structure and function to disease development / J. Box, N. Paquet, M. N. Adams, [et al.]. - DOI: 10.1186/s12867-016-0073-9 // BMC Molecular Biology 17. –2016. – Vol.19. – P. 757–779.
112. Overexpression of c-kit (CD117), relevant with microvessel density, is an independent survival prognostic factor for patients with HBV-related hepatocellular carcinoma / W. Yan, Z. Zhu, F. Pan, [et al.]. - DOI: 10.2147/OTT.S157545 // Onco targets and therapy. –2018. –Vol.11. – P. 1285–1292.
113. RNA 2'-O-methyltransferase fibrillarin facilitates virus entry into macrophages through inhibiting type I interferon response / P. Li, Y. Liu, L. Zhao, [et al.]. - DOI: 10.3389/fimmu.2022.793582 // Front Immunol. – 2022. –Vol.13. – P. 533–557.
114. Sun X. Ki-67: more than a proliferation marker / X. Sun, P. D. Kaufman // Chromosoma. – 2018. – Vol. 127 (2). – P. 175–186.
115. Testosterone meets albumin – the molecular mechanism of sex hormone transport by serum albumins / M. P. Czub, B. S. Venkataramany, K. A. Majorek, [et al.]. - DOI: 10.1039/c8sc04397c // Chemical Science. –2019. –Vol. 6. – P. 1607–1618.
116. The cell proliferation antigen Ki-67 organises heterochromatin / M. Skobecki, K. Mrouj, A. Camasses, [et al.]. - DOI: 10.7554/eLife.13722 // Elife Sciences. –2016. –Vol.5. – P. 1-33.
117. The expression of B23 and EGR1 protein is functionally linked in tumor cells under stress conditions / D. Ponti, D. Bastianella ,P. Rosa, [et al.]. - DOI: 10.1186/s12860-015-0073-5 // BMC Cell Biology. –2015. – Vol.27. – P. 41–69.

118. The nucleolus: structure/function relationship in RNA metabolism / D. Hernandez-Verdun, P. Roussel, M. Thiry, [et al.]. - DOI: 10.1002/wrna.39 // Wiley Interdiscip Rev RNA. –2010. –Vol. 1 (3). – P. 415–431.

119. The role of ki-67 in HR+/HER2-breast cancer: a role of study of 956 patients / Q. Ma, Y. B. Liu, T. She, et al. // Breast Cancer (Dove Med Press). –2024. – Vol.16. – P. 117–126.

120. Trefts E. The liver / E. Trefts, M. Gannon, D.H. Wasserman // Current Biology. –2017. – Vol.27 (21). – P. 1147-1151.

121. Yung, B. Y. Oncogenic role of nucleophosmin/B23 / B. Y. Yung // Chang Gung Med J. – 2007. – Vol. 30 (4). – P. 285–93.