

**Влияние трансдукции звёздчатых клеток печени
аденовирусным вектором Ad5-optHGF-optFGF-4-RFP
на их фенотип *in vitro* и *in vivo***

Э.И. Шарипова^{1,2}, А.А. Титова¹, А.К. Шафигуллина¹, А.Р. Галявиева^{2,1},
Е.Е. Гаранина¹, М.О. Мавликеев¹, Г.О. Певнев¹, Г.Р. Бурганова¹,
М.А. Титова¹, А.А.Ризванов¹, А.А. Гумерова¹, А.П. Киясов¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

420018, Казань, Университетская, 18

Elwishdoc@gmail.com

Реферат

В настоящее время активно разрабатываются методы генной и клеточной терапии для лечения заболеваний печени. Новым подходом, потенциально способным повысить терапевтический потенциал трансплантируемых клеток, может стать их генетическая модификация. Предполагается, что генные манипуляции с клетками, а именно получение и использование клеток, экспрессирующих и гиперэкспрессирующих лечебные факторы, позволит уменьшить необходимую для трансплантации терапевтическую дозу клеток и значительно повысить их терапевтический эффект. Однако неясным остается вопрос, как генетические модификации отражаются на фенотипе самих клеток, в частности, звёздчатых клеток печени, и какой терапевтический эффект будут оказывать такие клетки при их введении в организм. Целью нашей работы стало изучение фенотипа звёздчатых клеток печени после их генетической модификации аденовирусным вектором Ad5-optHGF-optFGF-4-RFP *in vitro* и *in vivo* после трансплантации крысам, перенёвшим операцию частичной гепатэктомии. В результате были получены данные, подтверждающие, что трансплантация звёздчатых клеток печени, трансдуцированных терапевтическими генами, оказывает положительное влияние на процесс регенерации печени, при этом

морфология и фенотип клеток остаются неизменными, что позволяет сделать вывод о безопасности их применения в регенеративной медицине.

Ключевые слова: звёздчатые клетки печени, частичная гепатэктомия, трансдукция, аденовирусный вектор, факторы роста

Influence of Hepatic Stellate Cells transduction by adenoviral vector Ad5-optHGF-optFGF-4-RFP on their phenotype *in vitro* and *in vivo*

E.I.Sharipova^{1,2}, A.A.Titova¹, A.K.Shafigullina¹, A.R.Galyavieva^{2,1}, E.E.Garanina¹, M.O.Mavlikeev¹, G.O.Pevnev¹, G.R.Burganova¹, M.A.Titova¹, A.A. Gumerova¹, A.P. Kiyasov¹

¹Kazan (Volga region) Federal University, Kazan

²Kazan State Medical University, Kazan

420018, Kazan, University str., 18

Elwishdoc@gmail.com

Abstract

Nowadays gene and cell therapy methods for liver diseases treatment are being actively developed. Genetic modification of cells could be an approach that considerably increases the therapeutic potential of transplanted cells. It is assumed that the genetic manipulation, particularly obtaining and application of cells, that express and overexpress therapeutic factors, could reduce the therapeutic dose of transplanted cells and noticeably enhance therapeutic effects of these cells. However, it remains unclear, how genetic modification influences on cellular phenotype, in this case hepatic stellate cells, and what kind of therapeutic effect will give these cells after transplantation into the organism.

The aim of our work was to study the phenotype of hepatic stellate cells after genetic modification by the adenoviral vector Ad5-optHGF-optFGF-4-RFP *in vitro* and *in vivo* and after subsequent transplantation into the rats with partial hepatectomy. As a result, it was confirmed that transplantation of hepatic stellate cells, transduced with therapeutic genes, has a positive influence on the process of

liver regeneration while the morphology and phenotype of cells remain unchanged. So, we can make a conclusion of safety of this method for use in regenerative medicine.

Key words: hepatic stellate cells, partial hepatectomy, transduction, adenoviral vector, growth factors

Литература:

1. Гумерова А.А., Киясов А.П. Могут ли перисинусоидальные клетки быть региональными стволовыми (прогениторными) клетками печени? Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2010; 1(5): 33-40.
2. Шафигуллина А.К. Влияние звездчатых клеток печени на фенотип мезенхимных стволовых клеток крысы *in vitro* [диссертация]. Казань: Казанский ГМУ; 2013.
3. Schirmacher P., Geerts A, Pietrangelo A et al. Hepatocyte growth factor/hepatopoietin A is expressed in fat-storing cells from rat liver but not myofibroblast-like cells derived from fat-storing cells. Hepatology. 1992; 15(1): 5-11.
4. Maher J.J. Cell-specific expression of hepatocyte growth factor in liver. Upregulation in sinusoidal endothelial cells after carbon tetrachloride. J. Clin. Invest. 1993; 91(5): 2244-52.
5. Ramadori G., Neubauer K, Odenthal M et al. The gene of hepatocyte growth factor is expressed in fat-storing cell of rat liver and is downregulated during cell growth and by transforming growth factor- β . Biochem. Biophys. Res. Commun. 1992; 183(2): 739-742.
6. Lee C.S., Friedman J.R., Fulmer J.T. et al. The initiation of liver development is dependent on Foxa transcription factors. Nature. 2005; 435: 944-47.
7. Marsden E.R., Hu Z, Fujio K et al. Expression of acidic fibroblast growth factor in regenerating liver and during hepatic differentiation. Lab. Invest. 1992; 67(4): 427-433.

8. Rosenbaum J., Blazejewski S., Préaux A.M. et al. Fibroblast growth factor 2 and transforming growth factor beta 1 interactions in human liver myofibroblasts. *Gastroenterology*. 1995; 109 (6): 1986-96.
9. Pinzani M., Knauss T.C., Pierce G.F. et al. Mitogenic signals for platelet-derived growth factor isoforms in liver fat-storing cells. *Am J Physiol*. 1991; 260 (3): 485-91.
10. Rosenbaum J., Blazejewski S. Regulation of Ito cell proliferation by soluble factors. *J. Hepatol*. 1995; 22(2): 65-70.
11. Gumerova A., Kiassov A., Abdulkhakov S. et al. Cell sources of liver development and regeneration. In search of hepatic stem cells. LAP Lambert Academic Publishing. 2012: 128.
12. Weidner K.M., Arakaki N., Hartmann G. et al. Evidence for the identity of human scatter factor and human hepatocyte growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991;88: 7001-5.
13. Gohda E., Tsubouchi H., Nakayama H. et al. Human hepatocyte growth factor in plasma from patients with fulminant hepatic failure. *Exp. Cell Res*. 1986;166: 139-150.
14. Gohda E., Tsubouchi H., Nakayama H. et al. Purification and partial characterization of hepatocyte growth factor from plasma of a patient with fulminant hepatic failure. *J. Clin. Invest*. 1988;81: 414-419.
15. C. Birchmeier C., Gherardi E. Developmental roles of HGF/SF and its receptor, the c-Met tyrosine kinase. *Trends Cell Biol*. 1998; 8: 404-410.
16. Nakanuma Y., Hosono M., Sanzen T. et al. Microstructure and development of the normal and pathologic biliary tract in humans, including blood supply. *Microsc. Res. Tech*. 1997;38: 552-570.
17. Титова А.А., Бурганова Г.Р., Шарипова Э.И. и соавт. Звёздчатые клетки печени стимулируют регенерацию печени крыс после частичной гепатэктомии на фоне подавления пролиферации гепатоцитов. *Гены и Клетки*. 2014; 9(3): 131-135.

18. Шафигуллина А.К., Трондин А.А., Бурганова Г.Р. и соавт. Сравнение различных методов выделения, мечения и трансплантации звёздчатых клеток печени крысы. *Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия*. 2013; 8(3):147-151.
19. Черенкова Е.Е., Шарипова Э.И., Ризванов А.А., Киясов А.П., издатели Создание рекомбинантного аденовируса, одновременно кодирующего кодон-оптимизированные последовательности фактора роста гепатоцитов и фактора роста фибробластов. *Материалы IV международной научно-практической конференции Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине*; 2014 29 октября – 1 ноября; Казань, Россия.
20. Theise N.D., Nimmakayalu M., Gardner R. et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology*. 2000; 32(1): 11-16
21. Шафигуллина А.К., Гумерова А.А., Трондин А.А. и соавт. Трансплантированные звёздчатые клетки печени участвуют в регенерации органа после частичной гепатэктомии без риска развития фиброза печени. *Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия*. 2012; 7(3):169-172.