

DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-5-12>

## Аутофагия как маркер жизнеобеспечения изолированных гепатоцитов

Н.П. Бгатова<sup>1</sup>, Р.С. Досымбекова<sup>2</sup>, Ю.С. Таскаева<sup>1</sup>, С.М. Мирошниченко<sup>3</sup>, Р.А. Князев<sup>3</sup>,  
А.О. Соловьева<sup>1</sup>, К.О. Шарипов<sup>2</sup>, З.Б. Тунгушбаева<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Российская Федерация;

<sup>2</sup>Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан;

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт биохимии Федерального Исследовательского центра Фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Российская Федерация;

<sup>4</sup>Казахский национальный педагогический университет им. Абая, Алматы Казахстан

### АННОТАЦИЯ

**Цель.** Выявить структурные признаки аутофагии в цитоплазме изолированных гепатоцитов в динамике их культивирования.

**Материал и методы.** Для анализа клеточного цикла культивированных гепатоцитов использовали метод точной цитофлуориметрии. Клетки культивировали в течение 1, 24 и 48 ч. Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы Image J. Определяли диаметры ядер и цитоплазмы гепатоцитов, объёмы ядер и цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое соотношение. Концентрацию внутриклеточных органелл и аутофагию оценивали при увеличении  $\times 30000$ .

**Результаты.** Выявлена остановка клеточного цикла в стадии  $G_0/G_1$  через 24 ч культивирования гепатоцитов и сохранение их жизнеспособности к 48 ч эксперимента без повышения процента клеток в стадии апоптоза. Показано уменьшение абсолютного объёма клеток, возрастание ядерно-цитоплазматического соотношения, отражающее снижение доли цитоплазмы гепатоцитов в динамике культивирования. Через 24 ч культивирования выявлено наличие в цитоплазме клеток аутофагосом с фрагментами цитоплазмы, розеток гликогена и аутолизосом с частично деградированным материалом. К 48 ч исследования отмечено достоверное снижение объёмной плотности гликогена и митохондрий, а также повышение базальной аутофагии в гепатоцитах, с преобладанием гликофагии и митофагии.

**Выводы.** Аутофагия способствует поддержанию клеточного гомеостаза изолированных гепатоцитов при стандартных условиях культивирования, что подтверждается снижением объёмной плотности гликогена и митохондрий, и возрастанием базальной аутофагии в цитоплазме гепатоцитов. Полученные данные свидетельствуют о вкладе аутофагии в процесс выживания первичной культуры гепатоцитов и могут быть использованы как показатель адекватности условий культивирования.

**Ключевые слова:** изолированные гепатоциты; клеточный цикл; базальная аутофагия.

### Как цитировать:

Бгатова Н.П., Досымбекова Р.С., Таскаева Ю.С., Мирошниченко С.М., Князев Р.А., Соловьева А.О., Шарипов К.О., Тунгушбаева З.Б. Аутофагия как маркер жизнеобеспечения изолированных гепатоцитов // Морфология. 2021. Т.159, №1 С. 5–12.

DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-5-12>

DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-5-12>

# Autophagy as a life support marker of isolated hepatocytes

Natalya P. Bgatova<sup>1</sup>, Raushan S. Dosymbekova<sup>2</sup>, Juliia S. Taskaeva<sup>1</sup>, Svetlana M. Miroshnichenko<sup>3</sup>, Roman A. Knyazev<sup>3</sup>, Anastasia O. Solovieva<sup>1</sup>, Kamalidin O. Sharipov<sup>2</sup>, Zina B. Tungushbaeva<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan;

<sup>3</sup>Research Institute of Biochemistry Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia;

<sup>4</sup>Kazakh National Pedagogical University named after Abai, Almaty, Kazakhstan

## ABSTRACT

**AIM:** The work aimed to reveal structural signs of autophagy in the cytoplasm of isolated hepatocytes in the dynamics of their cultivation.

**MATERIALS AND METHODS:** The cultivated hepatocyte culture cell cycle was studied by flow cytometry. The cells were cultured for 1, 24, and 48 hours. Morphometric analysis was performed using the computer program Image J. The diameters of the nuclei and cytoplasm of hepatocytes, the volumes of nuclei and cytoplasm, and the nuclear-cytoplasmic ratio were determined. The concentration of intracellular organelles and autophagy was evaluated with magnification by 30000 times.

**RESULTS:** The cell cycle arrest in the G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> stage after 24 hours of hepatocyte cultivation and the preservation of their viability by hour 48 of the experiment without increase in the percentage of cells in the apoptosis stage were revealed. The decrease in the absolute count of cells was registered, as well as an increase in the nuclear-cytoplasmic ratio indicating a decrease in the proportion of hepatocyte cytoplasm in the course of cultivation. After 24 hours of cultivation, autophagosomes with fragments of cytoplasm, glycogen rosettes, and autolysosomes with partially degraded material were revealed in the cell cytoplasm. By hour 48 of the study, a significant decrease in the volume density of glycogen and mitochondria was noted, as well as an increase in basal autophagy in hepatocytes, with a prevalence of glycophy and mitophagy.

**CONCLUSIONS:** Autophagy maintains cellular homeostasis of isolated hepatocytes under standard culture conditions, as evidenced by a decrease in the volume density of glycogen and mitochondria, and an increase in basal autophagy in the hepatocyte cytoplasm. The findings indicate the contribution of autophagy to the survival of the primary culture of hepatocytes and can be used as an indicator of the adequacy of culturing conditions.

**Keywords:** isolated hepatocytes; cell cycle; basal autophagy.

## To cite this article:

Bgatova NP, Dosymbekova RS, Taskaeva JS, Miroshnichenko SM, Knyazev RA, Solovieva AO, Sharipov KO, Tungushbaeva ZB. Autophagy as a life support marker of isolated hepatocytes. *Morphology*. 2021;159(1):5–12. DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-5-12>

В последнее время клеточные культуры гепатоцитов рассматривают как возможный источник для трансплантации при лечении наследственных или терминальных заболеваний печени [1]. Имеются данные, демонстрирующие терапевтический потенциал трансплантированных зрелых гепатоцитов в лечении наследственного метаболического заболевания печени [2] и острой печёночной недостаточности [3]. В связи с тем что печень является центральным органом метаболизма и детоксикации, изолированные гепатоциты используются в качестве модели для выявления фармакологических и токсикологических реакций лекарственных препаратов [4]. Модели первичной культуры гепатоцитов применяют для изучения метаболизма, секреции и регенерации печени [5].

В то же время сохраняются проблемы определения оптимальной методологии и эффективности культивирования первичных гепатоцитов [6]. Особое внимание уделяется фенотипическим характеристикам изолированных гепатоцитов, которые должны соответствовать состоянию клеток *in vivo* [7].

Известно, что механизмом сохранения гомеостаза клеток в условиях изменения внутриклеточной или внеклеточной микросреды является аутофагия. Аутофагия присутствует во всех эукариотических клетках на базальном уровне, и может быть селективной, нацеленной на определённый субклеточный компартмент, или не-селективной [8]. Аутофагический механизм чрезвычайно чувствителен к метаболическим изменениям внеклеточной микросреды, и адаптивный аутофагический ответ важен для преодоления стрессовых условий [9].

Целью работы было выявление структурных признаков аутофагии в цитоплазме изолированных гепатоцитов в динамике их культивирования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гепатоциты крыс-самцов линии Вистар массой 180–200 г выделяли методом рециркуляторной ферментативной перфузии с использованием 0,03% раствора коллагеназы («ICN Biomedicals, Inc», США) и отделяли от непаренхимных клеток с помощью дифференциального центрифугирования. Жизнеспособность клеток оценивали методом исключения трипанового синего («Serva», Германия). В эксперимент брали клетки с жизнеспособностью не менее 90%. Полученные клетки были посажены на 6-луночные планшеты (Corning), покрытые коллагеном в концентрации  $10 \times 10^4$  клеток/лунок. Гепатоциты культивировались в питательной среде RPMI-1640 (Gibco, США), pH 7.4, содержащей 10% эмбриональной сыворотки коров (Gibco, США), 100 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл гентамицина при стандартных условиях (5% CO<sub>2</sub>, при температуре 37 °С и влажности 95%). На проведение исследования получено разрешение Комитета по Биомедицинской этике Федерального исследовательского центра

фундаментальной и трансляционной медицины (протокол № 7 от 10.03.2020 г.).

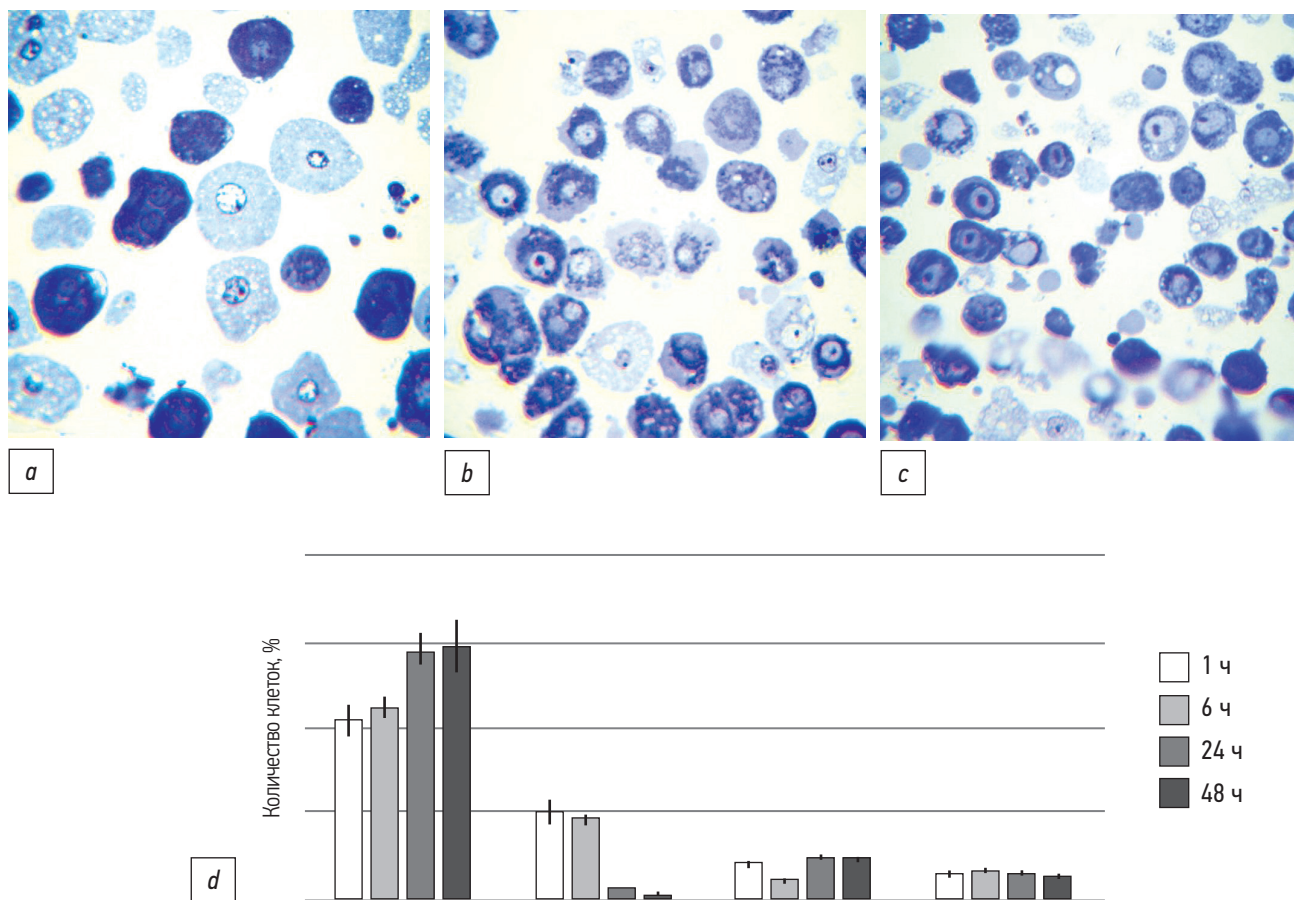
Для анализа клеточного цикла культивированных гепатоцитов был использован метод проточной цитофлуориметрии, с применением ДНК интеркалирующего флуоресцентного красителя Пропидий йодида (PI). Клетки культивировали в течение 1, 24 и 48 ч. Для снятия клеток с пластика использовали TrypLE реагент (Gibco, США), клетки осаждали центрифугированием, отмывали фосфатно-солевым буфером (PBS) и фиксировали ледяным 70% этанолом. После инкубации с буфером для экстракции ДНК клетки повторно центрифугировали и промывали PBS. Окрашенные пропидий йодидом клетки анализировали на проточном цитофлуориметре CytoFlexS (Beckman Coulter, США).

Для изучения ультраструктурной организации гепатоцитов взвесь клеток фиксировали в 4% растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в течение 1 ч в 1% растворе OsO<sub>4</sub> на фосфатном буфере (pH=7,4), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон (Serva, Германия). Полутонкие срезы толщиной 1 мкм получали на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Leica Microsystems, Германия), окрашивали толуидиновым синим и изучали под световым микроскопом «LEICA DME» (Leica Microsystems, Германия). Ультратонкие срезы толщиной 70–100 нм контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали под электронным микроскопом JEM 1400 (JEOL, Япония).

Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы Image J (Wayne Rasband, США). Определяли диаметры ядер и цитоплазмы гепатоцитов, объёмы ядер и цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое соотношение. Концентрацию внутриклеточных органелл оценивали при увеличении  $\times 30000$  при использовании закрытой тестовой системы из 500 точек. Среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD) вычисляли с помощью программного обеспечения Microsoft Excel (Microsoft, США). Достоверность различий между исследуемыми параметрами определяли с помощью программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft, США) с использованием U-критерия Манна-Уитни при уровне достоверности 95% ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При культивировании изолированных гепатоцитов в течение 48 ч отмечали последовательное снижение абсолютного объёма клеток. Через 24 ч объём клеток снизился на 57%, а через 48 ч – на 76%, по сравнению с объёмом гепатоцитов через 1 ч после культивирования. При этом абсолютные объёмы ядер гепатоцитов достоверно не изменялись. Ядерно-цитоплазматическое соотношение через 24 ч увеличилось в 2 раза, через 48 ч – в 6 раз (рис. 1а–с, табл.). Следовательно, снижение объёмов гепатоцитов в процессе культивирования



**Рис. 1.** Морфология и клеточный цикл изолированных гепатоцитов в динамике культивирования: *a, b, c* – гепатоциты в динамике культивирования через 1, 24 и 48 ч соответственно. Окраска толуидиновым синим. Увеличение  $\times 400$ . *d* – распределения гепатоцитов по фазам клеточного цикла при их культивировании в стандартной питательной среде. G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>/M – стадии клеточного цикла

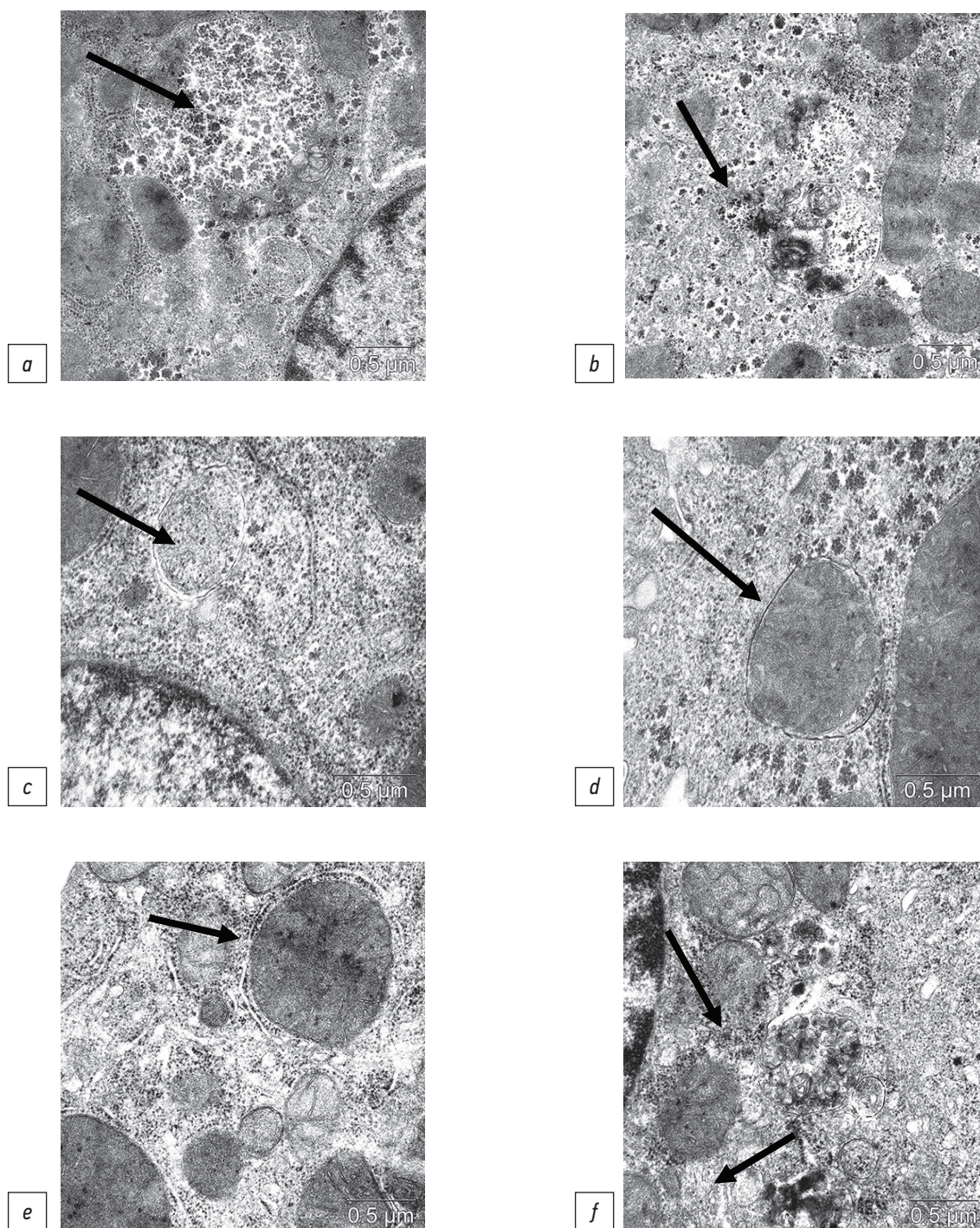
**Fig. 1.** Morphology and cell cycle of isolated hepatocytes in the course of cultivation: *a, b, c* – hepatocytes in the course of cultivation after 1, 24, and 48 hours, respectively. Staining with toluidine blue. Magnification  $\times 400$ . *d* – distribution of hepatocytes by phases of the cell cycle during their cultivation in a standard nutrient medium. G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>/M – the cell cycle stages

**Таблица.** Результаты морфометрии гепатоцитов в динамике культивирования (M $\pm$ SD)

**Table.** Results of hepatocyte morphometry in the course of cultivation (M $\pm$ SD)

Параметр	1 ч	24 ч	48 ч
Гепатоциты, V (мкм <sup>3</sup> )	17089,77 $\pm$ 10465,86	7322,782 $\pm$ 3682,01*	4154,77 $\pm$ 1904,82*
Ядра гепатоцитов, V (мкм <sup>3</sup> )	423,04 $\pm$ 379,21	427,73 $\pm$ 278,91	514,83 $\pm$ 242,8
ЯЦИ	0,03 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,05*	0,18 $\pm$ 0,03*
Митохондрии, Vv (%)	14,2 $\pm$ 2,72	14,7 $\pm$ 1,78	10,4 $\pm$ 2,38*
ЭПР, Vv (%)	1,41 $\pm$ 0,43	3,92 $\pm$ 1,04	2,02 $\pm$ 0,56
Аутофагосомы, Vv (%)	5,87 $\pm$ 1,45	21,2 $\pm$ 5,13*	8,78 $\pm$ 3,56*#
Аутолизосомы, Vv (%)	0,94 $\pm$ 1,22	2,65 $\pm$ 2,51*	6,88 $\pm$ 2,21*#
Гликоген, Vv (%)	5,41 $\pm$ 1,14	1,42 $\pm$ 1,08*	0,86 $\pm$ 0,84*

**Примечание:** Vv – объёмная плотность структур; ЭПР – эндоплазматический ретикулум; ЯЦИ – ядерно-цитоплазматический индекс (Vv ядра/Vv цитоплазмы). 1, 24, 48 ч – время культивирования гепатоцитов; \* – отличие от соответствующих величин через 1 ч культивирования, # – отличие от соответствующих величин через 24 ч культивирования ( $p \leq 0,05$ ).



**Рис. 2.** Ультраструктурная организация гепатоцитов в процессе культивирования. а – аутофагосома с розетками гликогена через 24 ч культивирования (стрелка); б – аутолизосома с частично деградированным материалом через 24 ч культивирования (стрелка); с – аутофагосома с фрагментом цитоплазмы через 48 ч культивирования (стрелка); д – аутофагосома с митохондрией через 48 ч культивирования (стрелка); е – отсутствие гликогена в цитоплазме и образование колец эндоплазматического ретикулума вокруг митохондрий через 48 ч культивирования (стрелка); ф – повышенное количество аутолизосом с включениями мембранных структур, находящихся на разной стадии деградации через 48 ч культивирования (стрелки). Увеличение  $\times 30000$

**Fig. 2.** Ultrastructural organization of hepatocytes during cultivation. а – autophagosome with glycogen rosettes after 24 h of cultivation (arrow); б – autolysosome with partially degraded material after 24 h of cultivation (arrow); с – autophagosome with a fragment of cytoplasm after 48 h of cultivation (arrow); д – autophagosome with mitochondria after 48 h of cultivation (arrow); е – the absence of glycogen in the cytoplasm and the formation of endoplasmic reticulum rings around mitochondria after 48 h of cultivation (arrow); ф – increased amount of autolysosomes with inclusions of membrane structures at different stages of degradation after 48 h of cultivation (arrows). Magnification  $\times 30000$

происходило за счёт снижения объёмной доли цитоплазмы клеток.

Оценка клеточного цикла продемонстрировала накопление гепатоцитов в  $G_0/G_1$  через 24 ч культивирования. В течение исследованных 48 ч гепатоциты сохраняли свою жизнеспособность без повышения процента клеток в стадии апоптоза (рис. 1d).

Исследование ультраструктурной организации гепатоцитов через 24 ч культивирования выявило наличие в цитоплазме клеток аутофагосом с фрагментами цитоплазмы и розеток гликогена (рис. 2a) и аутолизосом с частично деградированным материалом (рис. 2b).

Если через 24 ч культивирования в составе аутофагосом наблюдали преимущественно гранулы гликогена, то при изучении ультраструктуры гепатоцитов через 48 ч культивирования были выявлены аутофагосомы с фрагментами цитоплазмы и митохондриями (рис. 2c, d). Митохондрии часто были окружены цистернами гранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 2e). Кроме того, наблюдали митохондрии с нарушением строения крист и повышенное количество аутолизосом с включениями мембранных структур, находящихся на разной стадии деградации (рис. 2f).

Морфометрическое исследование ультраструктурной организации гепатоцитов выявило, что к 48 ч культивирования в гепатоцитах достоверно снижались объёмные плотности гликогена и митохондрий на 84 и 27% ( $p < 0,05$ ) соответственно (см. табл.). При этом возрастали на 50% и в 7 раз соответственно ( $p < 0,05$ ) объёмные плотности аутофагосом и аутолизосом (см. табл.).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Аутофагия является катаболической программой, нацеленной на элиминацию и деградацию макромолекулярных белковых агрегатов, субклеточных органелл и запасных питательных веществ (гликогена и липидов), для поддержания клеточного гомеостаза и активируется в условиях стресса. Метаболиты, образующиеся в лизосомах в результате аутофагии, повторно используются в качестве источников энергии или строительных блоков для синтеза макромолекул [10].

Известно, что гепатоциты играют жизненно важную, ключевую роль в хранении и образовании энергетического ресурса – гликогена [5]. Данные литературы свидетельствуют о взаимодействии между аутофагией и углеводным обменом и наличием динамической обратной связи между аутофагией и клеточным энергетическим балансом [10]. Гликоген может распознаваться и поглощаться аутофагосомами, а затем переноситься в лизосомы для разложения. Этот процесс называется «гликофагия» [11]. В нашем исследовании через 24 ч культивирования гепатоцитов наблюдали преимущественно аутофагосомы с гликогеном, а через 48 ч появлялись аутофагосомы с митохондриями. На этот период

отмечали наименьшее число клеток в S-фазе клеточного цикла и наличие высокого процента клеток в стадии  $G_0/G_1$ . Известно, что в условиях дефицита аминокислот прекращаются синтез белка и митоз, и аутофагический сигнальный путь активируется для высвобождения аминокислот путём расщепления белков с целью поддержания доступности аминокислотного пула для синтеза жизненно важных белков [11].

Одной из проблем, ограничивающей использование в медицине клеточных культур гепатоцитов, является потеря митотической активности клеток при их культивировании [12]. Остановка клеточного цикла была показана и в нашем исследовании. При этом на протяжении 48 ч культивирования возрастал уровень базальной аутофагии гепатоцитов и не увеличивалось число клеток в состоянии апоптоза. Аутофагия в данном случае, по-видимому, поддерживала уровень дифференцированности гепатоцитов и являлась эффективным способом сохранения клеточного гомеостаза [7].

Полученные нами данные свидетельствуют, что при культивировании изолированных гепатоцитов в стандартной питательной среде происходит возрастание базальной аутофагии в цитоплазме клеток. Через 24 ч эксперимента развивалась гликофагия, т. к. аутофагосомы содержали преимущественно материал, являющийся источником энергии для клетки – гранулы гликогена. В дополнение к гликофагии через 48 ч наблюдалась митофагия, в связи с потребностью клетки в аминокислотах и деградацией белковых комплексов. Полученные данные свидетельствуют о вкладе аутофагии в процесс выживания первичной культуры гепатоцитов и могут быть использованы как показатель адекватности условий культивирования.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, методами проточной цитофлуориметрии, световой и электронной микроскопии охарактеризована первичная культура гепатоцитов в динамике культивирования в стандартной питательной среде. Выявлены остановка клеточного цикла в  $G_0/G_1$  стадии через 24 ч культивирования гепатоцитов и сохранение их жизнеспособности без повышения процента клеток в стадии апоптоза. Возрастание базальной аутофагии в цитоплазме клеток – преобладание гликофагии и митофагии, по-видимому, является механизмом поддержания клеточного гомеостаза в процессе культивирования гепатоцитов.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

**Источник финансирования.** Работа выполнена за счет бюджетного финансирования в рамках государственного задания № NFWNR-2022-00120045.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Концепция и дизайн исследования: Н.П. Бгатова, А.О. Соловьева, Ю.С. Таскаева. Сбор и обработка материала: Р.С. Досымбекова, С.М. Мирошниченко, Р.А. Князев, А.О. Соловьева. Анализ и интерпретация данных: Н.П. Бгатова, К.О. Шарипов, З.Б.Тунгшубаева. Написание текста: Н.П. Бгатова, Ю.С. Таскаева.

**Funding.** The work was financed from budget under the state assignment No. NFWNR-2022-00120045.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Author contributions.** N.P. Bgatova, A.O. Solovieva, and Yu.S. Taskaeva created the research concept and design; R.S. Dosymbekova, S.M. Miroshnichenko, R.A. Knyazev, and A.O. Solovieva collected and processed the material; N.P. Bgatova, K.O. Sharipov, Z.B. Tungshbaeva analyzed and interpreted the data; N.P. Bgatova and Yu.S. Taskaeva wrote the text.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ogoke O., Oluwole J., Parashurama N. Bioengineering considerations in liver regenerative medicine // *J. Biol. Eng.* 2017. Vol. 11, № 6. doi: 10.1186/s13036-017-0081-4
2. Meyburg J., Hoffmann G.F. Liver cell transplantation for the treatment of inborn errors of metabolism // *J. Inherit. Metab. Dis.* 2008. Vol. 31, N 2. P. 164–172. doi: 10.1007/s10545-008-0829-6
3. Baccarani U., Adani G.L., Sainz M., et al. Human hepatocyte transplantation for acute liver failure: state of the art and analysis of cell sources // *Transplant. Proc.* 2005. Vol. 37, N 6. P. 2702–04. doi: 10.1016/j.transproceed.2005.06.027
4. Akbari S., Sevinç G.G., Ersoy N., et al. Robust, long-term culture of endoderm-derived hepatic organoids for disease modeling // *Stem Cell Reports.* 2019. Vol. 13, N 4. P. 627–641. doi: 10.1016/j.stemcr.2019.08.007
5. Cao L., Wang J., Bo L., et al. Effects of hypoxia on the growth and development of the fetal ovine hepatocytes in primary culture // *Biomed. Environ. Sci.* 2019. Vol. 32, N 8. P. 592–601. doi: 10.3967/bes2019.077
6. Nicolas C.T., Hickey R.D., Chen H.S., et al. Concise review: liver regenerative medicine: from hepatocyte transplantation to bioarti-

1. ficial livers and bioengineered grafts // *Stem Cells.* 2017. Vol. 35, N 1. P. 42–50. doi: 10.1002/stem.2500
7. Olsavsky Goyak K.M., Laurenzana E.M., Omiecinski C.J. Hepatocyte differentiation // *Methods Mol. Biol.* 2010. Vol. 640. P. 115–38. doi: 10.1007/978-1-60761-688-7\_6
8. Sica V., Galluzzi L., Bravo-San Pedro J.M., et al. Organelle-specific initiation of autophagy // *Mol. Cell.* 2015. Vol. 59, N 4. P. 522–39. doi: 10.1016/j.molcel.2015.07.021
9. Kroemer G., Jäättelä M. Lysosomes and autophagy in cell death control // *Nat. Rev. Cancer.* 2005. Vol. 5, N 11. P. 886–97. doi: 10.1038/nrc1738
10. Ha J., Guan K.L., Kim J. AMPK and autophagy in glucose/glycogen metabolism // *Mol. Aspects Med.* 2015. Vol. 46. P. 46–62. doi: 10.1016/j.mam.2015.08.002
11. He L., Zhang J., Zhao J., et al. Autophagy: the last defense against cellular nutritional stress. *Adv. Nutr.* 2018. Vol. 9, N 4. P. 493–504. doi: 10.1093/advances/nmy011
12. Krause P., Unthan-Fechner K., Probst I., Koenig S. Cultured hepatocytes adopt progenitor characteristics and display bipotent capacity to repopulate the liver // *Cell Transplant.* 2014. Vol. 23, N 7. P. 805–17. doi: 10.3727/096368913X664856

## REFERENCES

1. Ogoke O, Oluwole J, Parashurama N. Bioengineering considerations in liver regenerative medicine. *J. Biol. Eng.* 2017;11:6. doi: 10.1186/s13036-017-0081-4
2. Meyburg J, Hoffmann GF. Liver cell transplantation for the treatment of inborn errors of metabolism. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2008; 31(2):164–172. doi: 10.1007/s10545-008-0829-6
3. Baccarani U, Adani GL, Sainz M, et al. Human hepatocyte transplantation for acute liver failure: state of the art and analysis of cell sources. *Transplant. Proc.* 2005;37(6):2702–04. doi: 10.1016/j.transproceed.2005.06.027
4. Akbari S, Sevinç GG, Ersoy N, et al. Robust, long-term culture of endoderm-derived hepatic organoids for disease modeling. *Stem Cell Reports.* 2019;13(4):627–641. doi: 10.1016/j.stemcr.2019.08.007
5. Cao L, Wang J, Bo L, et al. Effects of hypoxia on the growth and development of the fetal ovine hepatocytes in primary culture. *Biomed. Environ. Sci.* 2019;32(8):592–601. doi: 10.3967/bes2019.077
6. Nicolas CT, Hickey RD, Chen HS, et al. Concise review: liver regenerative medicine: from hepatocyte transplantation to bioartificial livers and bioengineered grafts. *Stem Cells.* 2017;35(1):42–50. doi: 10.1002/stem.2500

7. Olsavsky Goyak KM, Laurenzana EM, Omiecinski CJ. Hepatocyte differentiation. *Methods Mol. Biol.* 2010;640:115–38. doi: 10.1007/978-1-60761-688-7\_6
8. Sica V, Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, et al. Organelle-specific initiation of autophagy. *Mol. Cell.* 2015;59(4):522–39. doi: 10.1016/j.molcel.2015.07.021
9. Kroemer G, Jäättelä M. Lysosomes and autophagy in cell death control. *Nat. Rev. Cancer.* 2005;5(11):886–97. doi: 10.1038/nrc1738
10. Ha J, Guan KL, Kim J. AMPK and autophagy in glucose/glycogen metabolism. *Mol. Aspects Med.* 2015;46:46–62. doi: 10.1016/j.mam.2015.08.002
11. He L, Zhang J, Zhao J, et al. Autophagy: the last defense against cellular nutritional stress. *Adv. Nutr.* 2018;9(4):493–504. doi: 10.1093/advances/nmy011
12. Krause P, Unthan-Fechner K, Probst I, Koenig S. Cultured hepatocytes adopt progenitor characteristics and display bipotent capacity to repopulate the liver. *Cell Transplant.* 2014;23(7):805–17. doi: 10.3727/096368913X664856

## ОБ АВТОРАХ

**\*Бгатова Наталия Петровна**, д.биол.н.; профессор;  
адрес: 630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4507-093X>;  
eLibrary SPIN: 3723-1316; e-mail: nataliya.bgatova@yandex.ru

**Досымбекова Раушан Сарсенбаевна**, д.биол.н.;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5241-1926>;  
eLibrary SPIN: 3723-1316; e-mail: dos.raushan@mail.ru

**Таскаева Юлия Сергеевна**, к.м.н.;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2812-2574>;  
eLibrary SPIN: 7154-4540; e-mail: inabrite@yandex.ru

**Мирошниченко Светлана Михайловна**;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6740-8241>;  
eLibrary SPIN: 6147-2989; e-mail: svmiro@yandex.ru

**Князев Роман Александрович**, к. биол. н.;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2678-8783>;  
eLibrary SPIN: 7401-5637;  
e-mail: knjazev\_roman@mail.ru

**Соловьёва Анастасия Олеговна**, к. биол. н.;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7740-8456>;  
eLibrary SPIN: 5351-2406;  
e-mail: solovevaao@gmail.com

**Шарипов Камалидин Орынбаевич**, д. биол. н., профессор;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5946-5521>;  
eLibrary SPIN: 1085-4647;  
e-mail: skamalidin@mail.ru

**Тунгушбаева Зина Байбагусовна**, д. биол. н., профессор;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4432-0658>;  
eLibrary SPIN: 6045-6416;  
e-mail: alua2002@yandex.kz

## AUTHORS INFO:

**\*Nataliya P. Bgatova**, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof.;  
Adress: 2, Timakova str., 630060, Novosibirsk, Russia;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4507-093X>;  
eLibrary SPIN: 3723-1316; e-mail: nataliya.bgatova@yandex.ru

**Raushan S. Dossymbekova**, MD, Dr. Sci. (Biol.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5241-1926>;  
eLibrary SPIN: 3723-1316;  
e-mail: dos.raushan@mail.ru

**Julia S. Taskaeva**, MD, Cand. Sci. (Med.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2812-2574>;  
eLibrary SPIN: 7154-4540; e-mail: inabrite@yandex.ru

**Svetlana M. Miroshnichenko**;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6740-8241>;  
eLibrary SPIN: 6147-2989; e-mail: svmiro@yandex.ru

**Roman A. Knyazev**, MD, Cand. Sci. (Biol.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2678-8783>;  
eLibrary SPIN: 7401-5637;  
e-mail: knjazev\_roman@mail.ru

**Anastasia O. Solovieva**, MD, Cand. Sci. (Biol.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7740-8456>;  
eLibrary SPIN: 5351-2406;  
e-mail: solovevaao@gmail.com

**Kamalidin O. Sharipov**, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof.;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5946-5521>;  
eLibrary SPIN: 1085-4647;  
E-mail: skamalidin@mail.ru

**Zina B. Tungushbaeva**, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof.;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4432-0658>;  
eLibrary SPIN: 6045-6416;  
e-mail: alua2002@yandex.kz

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author