

УДК 611.018.1+611.341+611.345+576.35

О.І.Дельцова, С.Б.Геращенко, Ю.Б.Чайковський¹

Івано-Франківський національний медичний університет,¹ Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця (м. Київ)

СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ КИШКИ

Резюме. Аналіз літератури присвячено результатам сучасних досліджень стовбурових клітин тонкої і товстої кишки дорослих. Розглядаються стовбурові ніші, маркери і транскрипційні фактори. Обговорюються потенційні можливості стовбурових клітин у регенерації та їхньої участі в канцерогенезі епітелію слизової оболонки кишки.

Ключові слова: кишка, стовбурові клітин дорослих, регенерація.

Тонка кишка належить до органів, що інтенсивно регенерують. Її епітелій відновлюється кожні 2-3 доби, а це – ентероцити, келихоподібні клітини, екзокриноцити з ацидофільною зернистістю (клітини Панета) і шлунково-кишково-підшлункові ендокриноцити (GEP-ендокриноцити) [1]. Проліферація, диференціація та апоптоз епітелію відбувається по осі крипта-ворсинка. Крипта становить проліферативний компартмент і містить стовбурові клітини (СК). Ворсинки репрезентують компартмент диференціації і в ньому представлені епітеліоцити з різних крипт, а не з одної [2].

У мишей відновлюється близько 200 млн. епітеліоцитів щодня. Регенерація починається з мітотичного поділу СК, які локалізуються в криптах тонкої і товстої кишки. Кожна крипта містить орієнтовно 250 клітин залежно від виду та анатомічного розташування. Розмір крипт приблизно однаковий у всіх відділах кишкового тракту. Дочірні клітини в міру дозрівання від СК мігрують по осі крипта-ворсинка в напрямку просвіту кишки [3]. На верхівці ворсинки ентероцити перебувають у стані апоптозу, їхні міжклітинні контакти слабшають і клітини відходять у просвіт кишки. Отже, диференційовані функціональні клітини містяться на ворсинках у тонкій кишці або на вершинах крипт – у товстій. У межах фізіологічної регенерації вони мусять бути замінені новими, які починають свій розвиток у криптах. У динамічній моделі організації крипт враховані експериментальні дослідження клітинної проліферації, напрямку міграції, утворення кількох клітинних ліній і клональної компетенції, завдяки чому можна прогнозувати повне відновлення клітинних популяцій, включаючи функціональні СК [4, 5].

Крипта є найбільшим проліферуєчим компартментом (СК і моноклональні). Ворсинка презентує компартмент диференціації (поліклональні клітини, які сюди переміщуються з кількох крипт). У кожній крипті є щонайменше одна СК. СК крипт характеризуються властивостями "стовбуровості" і недиференційованості (по відношенню до інших типів епітеліальних клітин, але не обов'язково – до ембріональних клітин). Кількість СК у крипті може бути різною. Існують докази того, що серед СК визначаються 2 популяції – тривало "спокійні" (зарезервовані, резервні) і активно вступаючі в цикл. Ці клітини локалізуються в стовбурових нішах з унікальним мікрооточенням. Зв'язок між цими СК недостатньо вивчений, особливо епітеліально-мезенхімальні взаємодії [6].

За сучасними уявленнями, одна крипта в дорослих осіб містить 4-6 справжніх (функціонуючих) СК. Ці клітини локалізуються на висоті діаметрів 4 клітин вище основи крипти, просторово розподілені серед своїх дочірніх, утворюючи кільце приблизно з 16 клітин. Вони лежать вище основи клітин Панета і розташовуються не завжди в одній площині. Їхні дочірні клітини в нормі проходять обмежену кількість поділів, хоча їх ліміт залишається невизначеним [7, 8].

Наступний ряд клітин розміщений у ділянці середини крипт і з них може дозріти один із чотирьох типів клітин. З дозріванням клітини втрачають свою "стовбуровість" і у верхній ділянці крипт вони вже не мають можливості для регенерації крипти після радіаційного пошкодження (тобто не є клоногенними). Рівні розташування клітин позначають від I+ до 6+. У крипті міститься до 30-40 клоногенних клітин. Незрілі до-

чірні клітини I-III покоління від справжніх СК можуть повернути свою стовбуровість у разі необхідності (наприклад, після пошкодження). Цікаво, що існує можливість частково диференційованих клітин дедиференціюватися і поповнювати запас справжніх СК. Цей аспект є дещо несподіваним стосовно традиційного розуміння функцій СК [9].

СК діляться мітозом, щоб задовільнити самодітримку і самовідтворення цих клітин. Для цього СК мають ділитися асиметрично і одна з них залишається СК, а друга диференціюється до зрілої (дорослої). Математичне моделювання показало, що близько 5% СК крипт діляться симетрично і тоді СК у крипті стає менше в результаті їхньої диференціації, переміщення і апоптозу. При змінах в оточенні може переважати один із типів поділу СК. Надлишок СК може бути врегульований шляхом спонтанного апоптозу, можливо, з видаленням клітин, які мають пошкодження ДНК (до 5-10%). Такий суворий контроль є життєво важливим, оскільки одна додаткова СК може призвести до надлишку 6-120 клітин у крипті.

Апоптоз у товстій кишці пригнічується *bcl-2* [9]. Це процес, який може еволюціонувати, щоб захистити крипту від постійної необхідності симетричних поділів клітин у ферментному цитотоксичному середовищі товстої кишки. Однак, у результаті *bcl-2*-індукованої супресії спонтанного апоптозу пришвидшується переміщення клітин із крипт до поверхні, що може призвести до гіперплазії. Таке співвідношення ризику і користі апоптозу впливає, без сумніву, із процесу еволюції, але при сучасних медичних досягненнях збільшення тривалості життя, захисний ефект придушення апоптозу має більший ризик для розвитку раку, ніж для саморегуляції вмісту крипт товстої кишки.

Доведено, що кількість СК у крипті жорстко регулюється і це впливає на структурну організацію крипт. Зміни в ділянці СК можуть стосуватися їх кількості, часової тривалості циклу, кількості поділів до етапу диференціації і числа ліній від кожної СК. Оскільки ці клітини зберігаються протягом життя, то кількість СК може відповідати числу клітин, які здатні генерувати карциноми.

СК кишки розташовуються в стовбурових нішах і мають визначене мікрооточення. Стовбурова ніша включає клітинні і неклітинні компоненти, що взаємодіють з метою контролю СК у дорослих і ці взаємодії складаються з механічних і дифундуючих факторів [10]. Основою регуляції кишкових СК є постійні перехресні взаємини

між епітеліальними і мезенхімальними клітинами в стовбуровій ніші, які опосередковуються Wnt, Sonic hedgehog, Notch, Pt3K і RMP шляхами [11]. Порушення цих тонких взаємодій можуть ініціювати кишкові пухлини з додатковими генетичними пошкодженнями або екологічною активацією ембріональних процесів, таких як епітеліомезенхімальні.

Кишкова проліферативна ніша складається з епітеліальних клітин, які розмножуються і диференціюються, і оточені клітинами мезенхімального походження, що забезпечують епітеліально-мезенхімальні зв'язки [2]. Розрізняють 2 типи СК крипт кишки – активні, що вступають у поділ (первинні) і довгоживучі спокою (резервні) [6, 12]. Клітини, що виникли в результаті асиметричного чи симетричного поділу, розрізнити важко, але відомо, що їх діяльність регулюється факторами росту і цитокінами, завдяки паракринній регуляції [13]. За спостереженнями R.C. Mifflin et al. [14], до клітин мікрооточення належать також фібробласти і міофібробласти – клітини мезенхімального походження з власної пластинки слизової оболонки кишки, які містять α -актин (α SMA+). Такі субепітеліальні міофібробласти необхідні для розвитку СК і дочірніх клітин, особливо GEP-ендокриноцитів [15]. Це підтверджено дослідями P. Simon-Assmann et al. [16], які відтворювали в культурі клітин крипт комплекс мікрооточення стовбурової ніші з обов'язковою присутністю фібробластів.

Незважаючи на численні наукові розробки з питань СК кишки, багато з них до цього часу не вирішені. У крипті з кількома СК центральним питанням є: чи кожна СК у звичайних умовах генерує тільки один тип клітин із різних диференційованих фенотипів, чи кожна СК повністю плюрипотентна і здатна дати початок усім типам кишкових клітин. Попередньо встановлено, що одна СК, безумовно, здатна виробляти кілька типів і, мало ймовірно, що СК крипт уніпотентні [9]. Але останнім часом з'явилися повідомлення про те, що в криптах існують різні види СК, які проліферують і диференціюються в різні клітинні лінії епітелію тонкої кишки [8, 17].

До цього часу остаточно не розкритий механізм, за яким клітина здійснює і приступає до реалізації програми диференціації [18]. Епітеліальний покрив кишки швидко оновлюється у всіх хребетних за допомогою спеціальних сигналів [19]. Одними з перших були вивчені деякі фактори гомеобокс транскрипції. Гомеобокс гени визначають долю клітини і загальне структуроутворення в багатьох тканинах. Гомеобокс-

вмісним білкам cdx-1 і cdx-2 надають регуляторну роль в епітеліальній диференціації.

Питання механізмів регуляції проліферації і диференціації клітин крипт постійно поповнюється новими фактами. M. Brittan, N.A. Wright [20] сигнальними шляхами для СК крипт визначили Notch/Delta і Wnt, F. Radtke, H. Clevers [21] – Wnt, Notch/Delta і кістково-морфогенетичні білки, S.J. Leedham et al. [13] – Notch/Delta та кістково-морфогенетичні білки. D. Pinto, H. Clevers [22] повідомили, що ключова роль у контролі стану СК і диференціації кишкового епітелію належить сигнальному шляху Wnt/бета-катеніну і їхні зміни можуть призвести до канцерогенезу в людини і миші. Кишкові крипт являють собою нішу, в якій епітеліоцити прагнуть реагувати на сигнали Wnt для реплікації і підготовки клітин до диференціації, а мутації в генах Wnt шляху призводять до раку [23]. T. Fev et al. [24] підтвердили, що в 90% випадків колоректального раку в людини виявили порушення Wnt сигнального шляху. У пухлинах людини часто активується сигнал фактора-перетворювача транскрипції і активатора транскрипції (STAT3). STAT3 також підтримує плюрипотентність і самооновлення ембріональних СК мишей і необхідний для контролю клітин на 4+ і 6+ рівні кишкових крипт [25]. Позитивно впливає на регенерацію кишкового епітелію глюкагон-подібний пептид-2, але водночас він може сприяти канцерогенезу товстої кишки [26]. Тобто, через високу безпрецедентну швидкість оновлення епітелію кишки, цей орган водночас має високу сприйнятливості до канцерогенезу.

Довести присутність у крипті різних типів клітин можна лише з допомогою маркерів [27]. Асиметричний поділ показує, що існує переважне спадкування тих чи інших дочірніх клітин: кожна клітина отримує цитоплазматичну і ядерну інформацію (чи обидві), яка визначає чи стане дочірня клітина комігуючою транзитною, чи залишиться СК. Одним із перших маркерів, який ідентифікували у справжніх кишкових СК, був Musashi-1, який раніше презентований у нейроендокринних СК [28, 29]. Пізніше в ролі маркерів запропонували CD45+ [30], BMPRIalpha, phosphoPTEN, DCAMKL1, Eph рецептори та інтегрини [31].

Із панелі кишкових Wnt-генів виокремили Lgr-5 (leucine-rich-repeat-containing G-protein-zv'язаний рецептор 5, також відомий як Gpr49) [32, 33]. Використавши 2 точки в аляях, N. Barker et al. [34, 35], A. Haegbath, H. Clevers [36], A.P. Garrison et al. [37] розкрили винятково високу експресію Lgr-5 у клітинах, що розташо-

вані в ділянці дна крипт. В експерименті автори показали, що Lgr-5-позитивні клітини крипт генерують усі епітеліальні лінії протягом 60 дб, що наводить на думку, що вони представляють сСК тонкої і товстої кишки. До того ж експресія Lgr-5 виявлена в інших дорослих тканинах і тканинах пухлин. Імуногістохімічно Lgr5 виявили в тонкій і товстій кишці людини в нормі та при передракових станах – їх кількість збільшується, особливо на поверхні кишки, а не в криптах [38].

H. Neng-Yi et al. [39], N.Y. Hou et al. [40] стверджують, що ті клітини, в яких імуногістохімічно виявили Lgr5, можуть бути СК лише тоді, коли вони експресують CD133+ і CD44+ і Lgr5 одночасно, що потребує подальшого вивчення. CD133+ (prominin-1) був одним із перших у класі білків мембран, які визначили в СК гемопоетичної і нервової системи в людини, що може бути використано в алогенній трансплантації [41]. Приблизно в 7% ракових клітин у мишей виявлено CD133+, що може бути додатковим маркером для визначення клітин пухлин [42].

Водночас E. Sangiorgi [43], H. Tian et al. [44] визначили в криптах два пули СК: перші, які експресують Lgr-5, швидко діляться, другі – Vmi1, які локалізуються над основою крипт. Автори стверджують, що клітини з Lgr-5 не обов'язкові для нормального кишкового гомеостазу і при їх відсутності клітини, що експресують Vmi1, можуть служити альтернативою цим клітинам. Тобто СК у людини з Vmi1 є резервом у разі пошкодження епітелію тонкої кишки, а клітини, які не пов'язані з патологічними станами, експресують Lgr-5 [45]. Водночас у мишей СК експресують Lgr5, Vmi-1 і WIP-1 [29].

В останніх дослідженнях з використанням генних мікрочіпів проаналізовано 85 генів, експресія яких пов'язана з асиметричним поділом при самооновленні. З них два білки, окрім Lgr5 і H2AZ, найбільше відповідають клітинам з таким типом поділу – CXCR6 і BTG2 [46].

Нині в мишей розрізняють дві клітинні лінії (Lgr5 і Asc12+): з високою швидкістю поділу і mTERT – з повільною швидкістю поділу [31, 47]. Високопроліферативні Lgr5+ клітини переважно відіграють роль у тканинному гомеостазі, тоді як mTERT клітини більш резистентні до пошкодження і беруть участь у відновленні після пошкодження. Подібні відомості сприятимуть розумінню відновлення епітелію тонкої кишки і можуть бути використані для поліпшення стану кишки при її захворюваннях і у хворих зі злоскісними пухлинами. Виявлено, що в двох нижніх третинах крипт маркером СК спокою є double

cortin і Cam kinase-like-1 (DCAMKL-1) [48]. Цей маркер може бути використаний при виділенні нормальних СК кишки і являє собою інструмент дослідження у відновній медицині і терапії раку. Кишковий епітелій є найбільш швидким у самооновленні тканин. Показано близько 6 циклів СК у кишкової крипті.

Lgr5+ СК у крипті перемижуються з клітинами Панета і діляться кожного дня. Як популяція Lgr5+ СК зберігаються довечно і в криптах оновлюються протягом 1-6 місяців. Більшість Lgr5+ СК діляться симетрично і не підтримують модель, в якій дві дочірні клітини мають різну долю. Клітинна динаміка узгоджується з моделлю, в якій резидентні СК подвоюються щодня [49]. Поодинокі Lgr5(+) також можуть розташовуватися за межами крипт і давати початок епітеліальним клітинам [50].

Культивування Lgr5+ клітин можна використати для тривалого самоорганізуючого розвитку епітеліоцитів крипт і ворсинок при відсутності неепітеліальних клітин ніші. Lgr5+ визначили в СК Панета в людини і мишей *in vivo* та *in vitro*. Окрім того, клітини Панета з маркером CD24+ експресують EGF, TGF- α , WNT3, Notch ligand Dll4, які потрібні для розвитку СК у культурі. Культивування СК із клітин Панета значно полегшує утворення нових клітин. Ці впливи, які виходять із клітин Панета, можуть замінити екзогенний Wnt [51].

Якщо шляхам розвитку ентероцитів з облямівкою присвячено багато наукових праць, то стосовно інших клітин – GEP-ендокриноцитів, келихоподібних та Панета – досліджень проведено мало. Відомо, що абсорбтивні ентероцити, келихоподібні, Панета та GEP-ендокриноцити розвиваються зі спільної для усіх клітин СК [52].

Найбільш ранні стадії розвитку GEP-ендокриноцитів регулюються Notch-сигнальним шляхом. Notch є неактивним у попередників GEP-ендокриноцитів. Клітини, які диференціюються, активують Notch у сусідніх клітинах для вимкнення проендокринних факторів і пригнічення ендокринної диференціації. В ендокринній специфікації бере участь фактор Match-1, щоб далі клітина могла диференціюватися в одну з трьох клітин – келихоподібну, Панета чи ендокриноцит. На наступному етапі ендокринної диференціації потрібен Neurogenin 3, а також транскрипційні фактори Pax4, Pax6, BETA2/neuroD homedox 1 [53]. Neurogenin 3 має важливе значення для розвитку GEP-ендокриноцитів тому, що він зменшує число келихоподібних клітин, що розвиваються, і водночас збільшує кількість

GEP-ендокриноцитів шляхом спрямування диференціації біпотенційних попередників у бік переважного розвитку GEP-ендокриноцитів, а не келихоподібних клітин [54]. Стовбурові і дочірні клітини для GEP-ендокриноцитів локалізуються в криптах на позиції 4+, але мігрують вниз до дна крипт і маркерами для них є маркери ендокринної системи [55].

Винятково мало робіт присвячено розвитку келихоподібних клітин слизової оболонки кишки [56]. До цього часу невідомі фактори програмування секреторних клітин кишки. Перетворення на секреторну клітину передбачає перепрограмування біпотентних клітин-попередниць [57].

Клітини Панета розвиваються як одна з ліній СК [58]. Стало відомо, що для диференціації клітин Панета потрібен SOX9 [59], а для них і келихоподібних клітин – E-кадгерин [60]. Маркером постмітотичних GEP-ендокриноцитів і клітин Панета вважають SOX9 [59, 61]. У 30% СК крипт, з яких розвиваються клітини Панета, виявлено CD24+ [62]. R.C. Mustafa et al. [63] ідентифікували Lgr4 у клітинах Панета, як дозвольний фактор Wnt-шляху в кишці при визначенні потенціальної мішені для терапії раку кишки. Таке саме значення приписують і CD166+ активатору молекул клітинної адгезії лейкоцитів на поверхні епітеліальних клітин [64]. CD166+ виявляється в СК крипт і клітинах Панета в людини і мишей у нормі і при пухлинах, має терапевтичний потенціал лікувальної мішені при колоректальному раку.

Нині існує гостра необхідність у технологіях вирощення клітин кишки *in vitro* [65]. Хоча кишкові СК вивчаються понад 30 років, але способи їхньої ізоляції залишаються досі невирішеною проблемою [62]. Були спроби виростити в культурі кишкові клітини зі СК, чим доведено, що спочатку утворюються агрегати, а з них формується химерна слизова оболонка [66]. Теперішні дослідження спрямовані на ізоляцію і характеристику СК епітелію кишки, що передбачають використання одержаних результатів у новітніх лікувальних технологіях хвороб шлунково-кишкового тракту [67]. Можливо, буде використана терапія СК при різних хворобах – від відновлення пошкодженої слизової оболонки до тканинної інженерії штучних конструкцій тонкої кишки у хворих із синдромом короткої кишки [68], травмах і запаленнях кишки, некротичних ентероколітах [69]. У подальшому лікування СК може бути при радіаційних пошкодженнях тонкої кишки та інших патологічних станах, які супроводжуються атрофією її слизової оболонки та

у хворих на злоякісні пухлини [31].

Першою демонстрацією можливостей використання тканинної інженерії були експерименти з трансплантацією сегмента тонкої кишки чи шлунка [70]. З цією метою забирали короткий сегмент кишки або шлунка у свиней йоркширської породи віком 6 місяців, поміщали в спеціальні контейнери, які імплантували внутрішньооче-

ревинно. Через 7 тижнів проводили гістологічні та імуннологічні дослідження. Утворені структури були подібні до нативної кишки. Гістологічно показано, що слизова оболонка складалася з циліндричного епітелію з усіма клітинними типами, прилеглою сполучною і м'язовою тканиною і була іннервована. У стовбурових нішах виявили міофібробласти.

Список використаної літератури

1. Chia L.A. *Intestinal stem cell* / L.A. Chia, C.J. Kuo // *Prog. Mol. Biol. Trans. Sci.* – 2010. – Vol. 96. – P. 157-173.
2. Yen T.H. *The gastrointestinal tract stem cell niche* / T.H. Yen, N.A. Wright // *Stem Cell Rev.* – 2006. – Vol. 2, № 3. – P. 203-212.
3. Хэм А. *Гистология в 5 т., пер. с англ. / А. Хэм, Д. Кормак.* – М.: Мир, 1983. – Т. 4. – 245 с.
4. *A comprehensive model of spatio-temporal stem cell and tissue organisation in the intestinal crypt* / P. Buske, J. Galle, N. Barker [et al.] // *PloS Comput. Biol.* – 2011. – Vol. 7, № 1. – P. 1001-1045.
5. Simons B.D. *Stem cells self-renewal in intestinal crypt* / B.D. Simons, H. Clevers // *Exp. Cell Res.* – 2011. – Vol. 317, № 19. – P. 2719-2724.
6. Shaker A. *Intestinal stem cells and epithelial-mesenchymal interactions in the crypt and stem cell niche* / A. Shaker, D.S. Rubin // *Transl. Res.* – 2010. – Vol. 156, № 3. – P. 180-187.
7. *Current review: intestinal stem cells and signaling* / D.H. Scoville, T. Sato, X.C. He [et al.] // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 134, № 3. – P. 849-864.
8. Freeman H.J. *Crypt region localization of intestinal stem cells in adult* / H.J. Freeman // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14 (47). – P. 7160-7162.
9. Booth K. *Gut instincts: thoughts on intestinal epithelial stem cells* / K. Booth, S.C. Potten // *J. Clin. Invest.* – 2000. – Vol. 105, № 11. – P. 1493-1499.
10. Walker M.R. *Stem cell niche* / M.R. Walker, K.K. Patel, T.S. Stappendeck // *J. Pathol.* – 2009. – Vol. 217, № 2. – P. 169-180.
11. Brablets S. *Gastrointestinal stem cells in development and cancer* / S. Brablets, O. Shumalhofer, T. Brabletz // *J. Pathol.* – 2009. – Vol. 217, № 2. – P. 307-317.
12. Potten C. *Adult Small Intestinal Stem Cells: Identification, Location, Characteristics, and Clinical Applications* / C. Potten, J. Ellis // *Springer Series on Biofilms.* – 2006. – Vol. 60. – P. 81-98.
13. *Intestinal stem cells* / S.J. Leedham, M. Brittan, S.A. McDonald [et al.] // *J. Cell Mol. Med.* – 2005. – Vol. 9, № 1. – P. 11-24.
14. *Intestinal myofibroblasts: target for stem cell therapy* / R.C. Mifflin, I.V. Pinchuk, J.I. Saada [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2011. – Vol. 300, № 5. – P. 684-696.
15. *Intestinal type fibroblasts selectively influence proliferation rate and peptide synthesis in the murine entero-endocrine cell line STC-1* / C. Ratineau, M. Plateroti, J. Dumortier [et al.] // *Differentiation.* – 1997. – Vol. 62, № 3. – P. 139-147.
16. *In vitro models of intestinal epithelial cell differentiation* / P. Simon-Assmann, N. Turck, M. Sidhoum-Jenny [et al.] // *Cell Biol. Toxicol.* – 2007. – Vol. 23, № 4. – P. 241-256.
17. Umar S. *Intestinal stem cells* / S. Umar // *Curr. Gastroenterol. Rep.* – 2010. – Vol. 12, № 5. – P. 340-348.
18. Karpowicz P. *All for one, and one for all: the clonality of the intestinal stem cell niche* / P. Karpowicz, N. Perrimon // *F 1000 Biol. Rep.* – 2010. – Vol. 2. – P. 73.
19. Crosnier C. *Organizing cell renewal in the intestine: stem cells, signals and combinatorial control* / C. Crosnier, D. Stamatakis, J. Lewis // *Nat. Rev. Genet.* – 2006. – Vol. 7, № 5. – P. 349-359.
20. Brittan M. *Gastrointestinal stem cells* / M. Brittan, N.A. Wright // *J. Pathol.* – 2002. – Vol. 197, № 4. – P. 492-509.
21. Radtke F. *Self-renewal and cancer of the gut: two sides of a coin* / F. Radtke, H. Clevers // *Science.* – 2005. – Vol. 307 (5717). – P. 1904-1909.
22. Pinto D. *Wnt control of stem cells and differentiation in the intestinal epithelium* / D. Pinto, H. Clevers // *Exp. Cell Res.* – 2005. – Vol. 306, № 2. – P. 357-363.
23. *Phases of canonical Wnt signaling during the development of mouse intestinal epithelium* / B.M. Kim, J. Mao, M.M. Taketo [et al.] // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 133, № 2. – P. 529-538.
24. *Wnt/beta-catenin is essential for intestinal homeostasis and maintenance of intestinal stem cells* / T. Fevr, S. Robine, D. Louwaed [et al.] // *Mol. Cell Biol.* – 2007. – Vol. 27, № 21. – P. 7551-7559.
25. Matthews J.R. *Absolute requirement for STAT3 function in small-intestine crypt stem cell survival* / J.R. Matthews, O.J. Sansom, A.R. Clarke // *Cell Death Differ.* – 2011. – Vol. 18, № 12. – P. 1934-1943.
26. Rowland K.J. *The "cryptic" mechanism of action of glucagon-like peptide-2* / K.J. Rowland, P.L. Brubaker // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2011. – Vol. 301, № 1. – P. 1-8.
27. Garrison A.P. *Intestinal stem cells* / A.P. Garrison, M.A. Helmrath, C.M. Dekaney // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2009. – Vol. 49, № 1. – P. 3-7.
28. *Higher expression patterns of the intestinal stem cell markers Musashi-1 and hairy and enhancer of split1 and their correspondence with proliferation patterns in the mouse jejunum* / T. Yu, Q.K. Chen, Y. Gong [et al.] // *Med. Sci. Monit.* – 2010. –

Vol. 16, № 2. – P. 68-74. 29. Stem cells of small intestinal crypt : where are they? / C.S. Potten, R. Gandara, Y.R. Manida [et al.] // *Cell Prolif.* – 2009. – Vol. 42, № 6. – P. 731-750. 30. Isolation and characterization of a putative intestinal stem cell fraction from mouse jejunum / C.M. Dekaney, J.M. Rodriguez, M.C. Gaul [et al.] // *Gastroenterology.* – 2005. – Vol. 129, № 5. – P. 1567-1580. 31. Mouse telomerase reverse transcriptase (mTert) expression marks slowly cycling intestinal stem cells / R. Montgomery, D. Carlone, C. Richmond [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2011. – Vol. 108. – P. 179-184. 32. Becker L. Lgr5, an intestinal stem cell marker, is abnormally expressed in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma / L. Becker, Q. Huang, H. Mashimo // *Dis. Esophagus.* – 2010. – Vol. 23, № 2. – P. 168-174. 33. Dey-Guha I. Role of *idb1* in adult intestinal homeostasis / I. Dey-Guha, M. Mukhopadhyay, M. Phillips // *Int. J. Biol. Sci.* – 2009. – Vol. 7. – P. 686-694. 34. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene *Lgr5* / N. Barker, J.H. van Es, J. Kuipers [et al.] // *Nature.* – 2007. – Vol. 449. – P. 1003-1007. 35. Very Long-term Self-renewal of Small Intestine, Colon and Hair Follicles from Cycling Lgr5+ve Stem Cells / N. Barker, J.H. van Es, V. Jaks [et al.] // *Cold Spring Harb. Symp. Quant Biol.* – 2008. – Vol. 73. – P. 351-356. 36. Haegbath A. Wnt signaling, *lgr5*, and stem cells in the intestine and skin / A. Haegbath, H. Clevers // *Am. J. Pathol.* – 2009. – Vol. 174, № 3. – P. 715-721. 37. Garrison A.P. Intestinal stem cells / A.P. Garrison, M.A. Helmrath, C.M. Dekaney // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2009. – Vol. 49, № 1. – P. 2-7. 38. Recker L. Immunostaining of Lgr5, an intestinal stem cell marker, in normal and premalignant human gastrointestinal tissue / L. Recker, Q. Huang, H. Mashimo // *Sci. World J.* – 2008. – Vol. 23, № 8. – P. 1168-1176. 39. Cd133+CD44+ subgroups may be human small intestinal stem cells / H. Neng-Yi, Y. Kim, C. Tie [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2011. – Vol. 38, № 2. – P. 997-1004. 40. CD133+ CD44+ subgroups may be human small intestinal stem cells / N.Y. Hou, K. Yang, T. Chen [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2011. – Vol. 38, № 2. – P. 997-1004. 41. Mizrak D. CD133: molecule of the moment / D. Mizrak, M. Brittan, M.R. Alison // *J. Pathol.* – 2008. – Vol. 214, № 1. – P. 3-9. 42. Prominin 1 marks intestinal stem cells that are susceptible to neoplastic transformation / L. Zhu, P. Gibson, D.S. Curre [et al.] // *Nature.* – 2009. – Vol. 457 (7229). – P. 603-607. 43. Sangiorgi E. *Bmi1* is expressed in vivo in intestinal stem cells / E. Sangiorgi, M.R. Capecchi // *Nat. Genet.* – 2008. – Vol. 40, № 7. – P. 909-920. 44. Tian H. A reserve stem cell population in small intestine renders Lgr-5 positive cell dispensable / H. Tian, B. Biens, S. Warming // *Nature.* – 2011. – Vol. 478 (7368). – P. 215-259. 45. Humphries A. Stem cells and inflammation in the intestine / A. Humphries, T.A. Graham, S.A. McDonald // *Recent Results Cancer Res.* – 2011. – Vol. 185. – P. 51-63. 46. A resource for discovering specific and universal biomarkers for distributed stem cells // M. Noh, J.L. Smith, J.H. Huh [et al.] // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6, № 7. – P. 220-277. 47. Montgomery R.K. Small intestinal stem cell markers / R.K. Montgomery, D.T. Breault // *J. Anat.* – 2008. – Vol. 213, № 1. – P. 52-58. 48. Doublecortin and CaM kinase-like-1 and leucine-rich-repeat-containing G-protein-coupled receptor mark quiescent and cycling intestinal stem cells, respectively / R. May, S.M. Sureban, N. Hoang // *Stem Cells.* – 2010. – Vol. 27, № 10. – P. 2571-2579. 49. Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells / H.J. Snippert, L.G. van der Flier, T. Sato [et al.] // *Cell.* – 2010. – Vol. 143, № 1. – P. 133-144. 50. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche / T. Sato, R.G. Vries, H.J. Snippert [et al.] // *Nature.* – 2009. – Vol. 459 (7244). – P. 262-265. 51. Paneth cells constitute the niche for *lgr5* stem cells in intestinal crypts / T. Sato, J.H. van Es, H.J. Snipper [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 469 (7330). – P. 415-418. 52. Sabot T. Identification and classification of lysozyme-expressing cells in the mouse small intestinal crypt and their correlation with the morphology of secretory granules and labeling density of immunology / T. Sabot, E. Kawamoto, J. Yamata // *Kaibogaku Zasshi.* – 2009. – Vol. 84, № 3. – P. 83-91. 53. Schonhoff S.E. Minireview: Development and differentiation of gut endocrine cells / S.E. Schonhoff, M. Giel-Moloney, A.B. Leiter // *Endocrinology.* – 2004. – Vol. 145, № 6. – P. 2639-2644. 54. Intestinal Neurogenin 3 directs differentiation of a bipotential secretory progenitor to endocrine cell rather than goblet cell fate / L. Lopez-Diaz, R.N. Jain, T.M. Keeley [et al.] // *Dev. Biol.* – 2007. – Vol. 309, № 2. – P. 298-305. 55. Stem cell marker-expressing subset of enteroendocrine cells resides at the crypt base in the small intestine / Y. Sei, X. Lu, A. Liou [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2011. – Vol. 300, № 2. – P. 345-356. 56. Yeung T.M. Regulation of cell-renewal and differentiation by the intestinal stem cell niche / T.M. Yeung, L.A. Chia, C.M. Kosinski // *Cell Mol. Life Sci.* – 2011. – Vol. 68 (15). – P. 2513-2523. 57. VanDussen K.L. Mouse atonal homolog 1 directs intestinal progenitors to secretory cell rather than absorptive cell fate / K.L. VanDussen, L.C. Samuelson // *Dev. Biol.* – 2010. – Vol. 346, № 2. – P. 215-223. 58. Paneth cell differentiation in the developing intestine of normal and transgenic mice / L. Bry, P. Falk, K. Huttner [et al.] // *Proc. Natl. Acad.*

Sci. USA. – 1994. – Vol. 91 (22). – P. 10335-10339. 59. SOX9 is required for the differentiation of paneth cells in the intestinal epithelium / Y. Mori-Akiyama, M. van den Born, J.H. van Es [et al.] // *Gastroenterology*. – 2007. – Vol. 133, № 2. – P. 539-546. 60. A key role for E-cadherin in intestinal homeostasis and Paneth cell maturation / M.R. Schneider, M. Dahloff, D. Horst [et al.] // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5, № 12. – P. 1432-1435. 61. Distinct SOX9 levels differentially mark stem/progenitor populations and enteroendocrine cells of the small intestine epithelium / E.J. Formeister, A.L. Sionas, D.K. Lorange [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2009. – Vol. 296, № 5. – P. 1108-1118. 62. Sorting mouse jejunal cells with CD24 yields a population with characteristics of intestinal stem cells / R.J. von Furstenberg, A.S. Gulati, A. Baxi [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2011. – Vol. 300, № 3. – P. 409-417. 63. Lgr4 is required for Paneth cell differentiation and maintenance of intestinal stem cells ex vivo / R.C. Mustafa, T. Van Loy, A. Lefort [et al.] // *EMBO*. – 2011. – Vol. 12, № 6. – P. 558-564. 64. Characterization of the intestinal cancer stem cells marker CD166 in the human and mouse gastrointestinal tract / T.G. Levin, A.E. Powell, P.S. Davies [et al.] // *Gastroenterology*. – 2010. – Vol. 139, № 6. – P. 2072-2082. 65. Intestinal epithelial cells in vitro / D.P. Copra, A.A. Dombrowski, P.M. Stemmer [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2010. – Vol. 19, № 1. – P. 131-142. 66. Slorach E.M. A mouse model of intestinal stem cell function and regeneration / E.M. Slorach, F.C. Champbell, J.R. Dorin // *J. Cell Sci.* – 1999. – Vol. 112. – P. 3029-3038. 67. Quante M. Stem cells in gastroenterology and hepatology / M. Quante, T.C. Wang // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2009. – Vol. 6, № 12. – P. 724-737. 68. Day R.M. Epithelial Stem Cells and Tissue Engineering Intestine / R.M. Day // *Curr. Stem. Res. Ther.* – 2006. – Vol. 1. – P. 113-120. 69. Intestinal stem cells and their roles during mucosal injury and repair / M.D. Neal, W.N. Richardson, C.P. Sodni [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2011. – Vol. 167, № 1. – P. 1-8. 70. Tissue-engineering small intestine and stomach from autologous tissue in a preclinical large animal model / F.G. Sala, S.M. Kunisaki, E.R. Ochoa [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2009. – Vol. 156, № 2. – P. 205-212.

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КИШКИ

Резюме. Анализ литературы посвящен результатам современных исследований стволовых клеток тонкой и толстой кишки взрослых. Рассматриваются стволовые ниши, маркеры и транскрипционные факторы. Обсуждаются потенциальные возможности стволовых клеток в регенерации и их участие в канцерогенезе эпителия слизистой оболочки кишки.

Ключевые слова: кишка, стволовые клетки взрослых, регенерация.

INTESTINAL STEM CELLS

Abstract. The review of literature is devoted to the results of modern investigations of stem cells of the adult small and large intestine. The stem niches, markers and transcriptional factors are considered. Potential stem cells opportunities in the regeneration and their participation in cancerogenesis of the mucosal epithelium are discussed.

Key words: intestine, adult stem cells, regeneration.

National Medical University (Ivano-Frankivs'k),
O.O.Bohomolets National Medical University (Kyiv)

Надійшла 29.04.2013 р.

Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)