

## ПРИМЕНЕНИЕ АЛЛОГЕННЫХ ГЕПАТОЦИТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

© Литвинова Е.С.<sup>3</sup>, Харченко А.В.<sup>3</sup>, Быстрова Н.А.<sup>2</sup>, Конопля А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра акушерства и гинекологии, <sup>2</sup>кафедра биологической химии, <sup>3</sup>кафедра патологической анатомии Курского государственного медицинского университета, Курск  
E-mail: [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru)

В эксперименте 60-дневная алкогольная интоксикация приводит к развитию основных биохимических синдромов повреждения печени: цитолитического, внутриклеточного холестаза, токсического поражения печени по иммуно-воспалительному типу и недостаточности синтетических процессов, окислительного стресса, дисбалансу функционально-метаболической активности эритроцитов и нейтрофилов периферической крови. Введение на этом фоне ксеногенных гепатоцитов нормализует 20,7% измененных метаболических показателей, корректирует, но не до значений нормы, 62,1%. Применение аллогенных гепатоцитов нормализует и корректирует 44,8% и 55,2% параметров, но наиболее эффективным оказалось применение культуральной жидкости аллогенных гепатоцитов.

**Ключевые слова:** интоксикация этанолом, аллогенные гепатоциты, коррекция.

### USING ALLOGENEIC HEPATOCYTES FOR CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS IN CHRONIC ALCOHOLIC INTOXICATION

*Litvinova E.S.<sup>3</sup>, Kharchenko A.V.<sup>3</sup>, Bystrova N.A.<sup>2</sup>, Konoplya A.A.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, <sup>2</sup>Department of Biological Chemistry,

<sup>3</sup>Department of Pathological Anatomy of Kursk State Medical University, Kursk

According to the experiment 60-day introduction of ethanol leads to the development of the main biochemical syndromes of liver damage: intracellular cytolysis and cholestasis, toxic hepatopathy of immuno-inflammatory type and failure of the synthetic processes, oxidizing stress, imbalance of functional and metabolic activity of neutrophils and erythrocytes of the circulating blood. Against this background the introduction of xenogenic hepatocytes enables to normalize 20.7% of the changed metabolic indicators and corrects 62.1% but not to the normal values. The use of allogeneic hepatocytes normalizes and corrects 44.8% and 55.2% of parameters, but the use of cultural liquid of the allogeneic hepatocytes was the most effective.

**Keywords:** ethanol intoxication, allogeneic hepatocytes, correction.

Для применения клеточных технологий пер-востепенными являются следующие заболевания печени: острая печеночная недостаточность, возникающая вследствие вирусного гепатита, идиосинкразии, отравления грибами и другими токсическими гепатотропными токсикантами (продукты бытовой химии, пестициды, вещества промышленного производства и др.), наследственные метаболические заболевания печени, конечные стадии болезни печени (цирроз) [1, 6].

Злоупотребление алкоголем входит в число основных причин утраты трудоспособности и формирует не менее 5% глобального бремени болезней. В настоящее время доказана прямая связь между употреблением алкоголя и развитием примерно 60 болезней, а также косвенная роль алкоголя в генезе более чем 200 других заболеваний и патологических состояний. Неумеренное употребление алкоголя относится к ведущим факторам, лежащим в основе повышения смертности населения. Алкоголь служит причиной примерно 3,3 млн ежегодных смертей во всем мире, что составляет приблизительно 6% от общей летальности. Тяжелые отравления алкоголем приводят, помимо нарушений деятельности центральной

нервной системы, к токсическому поражению печени, при этом злоупотребление алкоголем является одним из основных этиологических факторов в структуре причин повреждения печени, которые занимают второе место после заболеваний вирусной этиологии [18, 24, 27-30].

В ранее проведенных исследованиях установлено, что как кратковременное (5 суток), так и длительное введение (30 и 60 дней) этанола экспериментальным животным приводит к метаболическим нарушениям, но если при кратковременном поступлении этанола изменения носят реактивный характер, то 30-дневная, в большей степени 60-дневная интоксикация этанолом проявляется токсическим поражением печени, оксидантными и иммунными нарушениями, недостаточно корректирующимися применением гепатопротекторов, антиоксидантов и иммуномодуляторов [8].

Учитывая широкую распространенность и доступность спиртных напитков и принимая во внимание то, что чрезмерное употребление этанола или суррогатов алкоголя является главной причиной, приводящей к развитию терминальных стадий заболеваний печени, выяснение механиз-

мов влияния стволовых клеток печени и костного мозга, гепатоцитов, продуктов их жизнедеятельности при патологии печени, в том числе и алкогольного генеза, представляется крайне важным [2, 12, 14]. При этом анализ научных публикаций показывает явную нехватку экспериментальных данных об изучении влияния клеточных технологий в условиях хронической алкогольной интоксикации (ХАИ).

Целью настоящего исследования стало изучение корректирующих эффектов аллогенных и ксеногенных гепатоцитов на метаболические нарушения, вызванные хронической интоксикацией этанолом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 58 здоровых половозрелых крысах-самцах Вистар массой 150-200 г. Кроме этого, было задействовано 55 доноров гепатоцитов через 5-6 дней после рождения, из них 20 крыс Вистар и 35 белых мышей. Все исследования проводили в одно и то же время суток – с 8 до 12 ч., содержание и забой животных проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986), и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

ХАИ моделировали принудительным внутрижелудочным введением 20% раствора этанола в дозе 2 мл/кг через 24 часа в течение 60 дней [8].

Выделение ксеногенных (мышинных) и аллогенных гепатоцитов (КГ, АГ) от животных через 5-6 дней после рождения производилось по методике M.N. Berry, D.S. Friend [25], для чего после забора печени ее измельчали, гепатоциты из ткани извлекали выдавливанием с помощью стеклянного гомогенизатора в среде 199. Полученную клеточную взвесь дважды отмывали путем центрифугирования в течение 10 мин при 400 g, разбавляли в среде 199 и подсчитывали количество клеток. Их жизнеспособность определяли в тесте с трипановым синим, при этом в дальнейших опытах использовали клеточные суспензии, содержащие более 90% жизнеспособных клеток. После концентрации путем центрифугирования пул суспензии клеток от 2-3 крыс или 3-4 мышей в концентрации  $2 \times 10^6$  /кг сразу же вводили внутрибрюшинно, десятикратно, через 24 часа, в объеме 0,5 мл в среде 199. В течение всех манипуляций с клеточной взвесью температура использованной среды 199 составляла 36-37°C [7, 19].

Для получения культуральной жидкости АГ культивировали в среде 199 ( $5 \times 10^7$  клеток на 3 мл среды), содержащей 5% телячьей эмбриональной сыворотки, в течение 4 ч. После истечения срока инкубации клетки осаждали центрифугированием (15 мин при 400 g). Концентрацию белка в культуральной жидкости определяли с использованием красителя Кумаси G-250. Полученные культуральные жидкости АГ (КЖАГ) десятикратно (с 24-часовым интервалом) внутрибрюшинно вводили реципиентам из расчета 5 мг/кг белка [11]. Гепатоциты и КЖАГ реципиентов готовили ежедневно и вводили сразу же после приготовления в течение 10 суток, начиная с 51 суток интоксикации этанолом.

Экспериментальных животных делили на 5 групп по 11-12 особей в каждой: 1-я группа (контрольная) – здоровые крысы; 2-я группа – ХАИ; 3-я группа – ХАИ и введение КГ; 4-я группа – ХАИ и введение АГ; 5-я группа – ХАИ и введение КЖАГ. Забой крыс осуществляли через 24 часа после последнего введения гепатоцитов или КЖАГ.

Эритроциты и плазму получали из 4-5 мл гепаринизированной крови, для чего, после ее центрифугирования и отделения плазмы, эритроцитарную массу отстаивали в 20 мл 10 mM Na-фосфатного буфера (pH=7,4), содержащего 0,9% хлорида натрия и 3% декстрана Т-500, в течение 30 минут при температуре 37°C. После центрифугирования удаляли надосадочную жидкость аспирацией, а эритроцитарную массу подвергали дополнительной очистке на хроматографической колонке через HBS-целлюлозу, после чего определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) [20] и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [17].

Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию в плазме и эритроцитах ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА) с помощью набора «ТБК-Агат» («Агат-Мед» Россия) при использовании спектрофотометра «Апель-330» (Япония), длина волны 535 нм и 570 нм. Методом прямого/конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с детекцией продуктов реакции в диапазоне длины волны 405-630 оценивали состояние антиоксидантной системы с применением наборов: активность супероксиддисмутазы (СОД) «Bender Medsystems» (Австрия) и каталазы «Cayman Chemical» (США). Общую антиокислительную активность (ОАА), определяли методом, основанным на степени ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА. Уровень стабильных метаболитов оксида азота (СМ<sub>ОН</sub>) выявляли с применением набора для твердофазного ИФА фирмы «R&D» (Англия). Регистрация всех ре-

зультатов ИФА осуществлялась при помощи микропланшетного фотометра «Sunrise», Tecan (Австрия).

Для оценки функции печени в плазме крови определяли активность аспартат- и аланинаминотрансфераз (АСТ, АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гаммаглутаминтранспептидазы (ГГТ), содержание билирубина, фибриногена, протромбиновый индекс (ПТИ) и тимоловую пробу. Величины всех перечисленных показателей определяли унифицированными методами с использованием стандартных наборов реактивов. Активность печеночных ферментов оценивали на автоматическом биохимическом анализаторе Vitalab Flexor E (Нидерланды) реагентами Analyticon® Biotechnologies AG (Германия). Содержание фибриногена определяли на полуавтоматическом анализаторе показателей гемостаза STart4 (Франция), реагентами Diagnostica Stago (Франция).

Функционально-метаболическую активность полиморфноядерных лейкоцитов крови оценивали по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ), индексу активности фагоцитоза (ИАФ). Активность кислородзависимых систем нейтрофилов оценивали по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), спонтанного и стимулированного зимозаном (НСТ-сп., НСТ-ст.), с расчетом функционального резерва [5].

Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (М), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Существенность различий оценивали по U-критерию

Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия с  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Длительное поступление этанола приводит у экспериментальных животных к развитию биохимических синдромов повреждения печени: цитолиза (повышение активности АСТ и АЛТ), токсического поражения (повышение коэффициентов соотношения ферментов АСТ/АЛТ (де Ритиса) и ГГТ/АСТ), внутриклеточного холестаза (повышение активности ЩФ, ГГТ и концентрации билирубина), недостаточности синтетических процессов (снижение ПТИ и концентрации фибриногена), иммуно-воспалительного (повышение тимоловой пробы). Введение КГ нормализовало ПТИ и уровень фибриногена и приближало к показателям здоровых животных, но не до значений нормы, все остальные исследованные параметры функционального состояния гепатоцитов. Использование АГ, по сравнению с предыдущей группой, дополнительно нормализовало коэффициент де Ритиса и активность ЩФ и корригировало, но не до значений контроля, активность АСТ, ГГТ и тимоловую пробу. Применение КЖАГ, по сравнению с АГ, дополнительно нормализовало активность АСТ, ГГТ и уровень билирубина (табл. 1).

60-дневное принудительное поступление этанола привело к развитию процессов ПОЛ (повышение концентрации МДА и АГП), снижению факторов антиоксидантной защиты (снижение ОАА и активности каталазы, СОД). Кроме этого, выявлено снижение уровня  $СМ_{NO}$ .

Таблица 1

Ксено- и аллогенные гепатоциты в коррекции нарушений функциональной активности гепатоцитов в условиях длительной интоксикации этанолом (М±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Контроль	Интоксикация этанолом			
			-	Введение КГ	Введение АГ	Введение КЖАГ
АСТ	Е/ч•л	20,1±1,6	41,9±3,1 <sup>*1</sup>	33,5±2,2 <sup>*1,2</sup>	24,3±2,1 <sup>*1-3</sup>	22,2±1,9 <sup>*2,3</sup>
АЛТ	Е/ч•л	19,0±1,1	32,2±2,9 <sup>*1</sup>	25,1±1,4 <sup>*1,2</sup>	23,9±1,2 <sup>*1,2</sup>	22,9±2,1 <sup>*1,2</sup>
Коэффициент де Ритиса, АСТ/АЛТ		1,06±0,05	1,3±0,03 <sup>*1</sup>	1,33±0,04 <sup>*1</sup>	1,02±0,04 <sup>*2,3</sup>	0,97±0,04 <sup>*2,3</sup>
ГГТ	Е/ч•л	4,6±0,3	19,9±2,4 <sup>*1</sup>	10,5±1,2 <sup>*1,2</sup>	8,7±1,4 <sup>*1-3</sup>	5,1±0,9 <sup>*2,4</sup>
ГГТ/АСТ		0,23±0,01	0,46±0,03 <sup>*1</sup>	0,31±0,02 <sup>*1,2</sup>	0,36±0,03 <sup>*1,2</sup>	0,23±0,02 <sup>*2,4</sup>
ЩФ	Е/ч•л	232,2±17,1	330,8±13,0 <sup>*1</sup>	296,0±15,7 <sup>*1,2</sup>	252,6±19,1 <sup>*2,3</sup>	264,7±15,5 <sup>*2,3</sup>
Билирубин	мкмоль/л	5,4±1,2	13,5±1,2 <sup>*1</sup>	9,4±1,3 <sup>*1,2</sup>	8,7±1,0 <sup>*1,2</sup>	6,9±1,1 <sup>*2,3</sup>
ПТИ	%	68,7 ±1,7	62,3±1,8 <sup>*1</sup>	66,2±2,9	69,0±2,8 <sup>*2</sup>	67,7±2,4 <sup>*2</sup>
Фибриноген	г/л	3,3±0,1	2,7±0,1 <sup>*1</sup>	3,1±0,2 <sup>*2</sup>	3,0±0,2 <sup>*2</sup>	3,4±0,2 <sup>*2</sup>
Тимоловая проба	Ед. S-N	0,59±0,02	2,2±0,1 <sup>*1</sup>	1,9±0,2 <sup>*1</sup>	0,94±0,03 <sup>*1-3</sup>	0,9±0,04 <sup>*1-3</sup>

Примечание: на этой и последующих таблицах звездочкой (\*) отмечены достоверные отличия средних арифметических ( $p < 0,05$ ); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

Таблица 2

Ксено- и аллогенные гепатоциты в коррекции нарушений метаболических показателей сыворотки крови в условиях длительной интоксикации этанолом (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Контроль	Интоксикация этанолом			
			-	Введение КГ	Введение АГ	Введение КЖАГ
МДА	мкмоль/л	0,35±0,05	6,2±0,3 <sup>*1</sup>	3,1±0,3 <sup>*1,2</sup>	2,4±0,2 <sup>*1-3</sup>	1,4±0,1 <sup>*1-4</sup>
АГП	усл. ед.	0,12±0,02	0,71±0,03 <sup>*1</sup>	0,42±0,02 <sup>*1,2</sup>	0,3±0,03 <sup>*1-3</sup>	0,2±0,02 <sup>*1-4</sup>
ОАА	%	44,2±2,0	39,1±1,1 <sup>*1</sup>	43,2±1,3 <sup>*2</sup>	44,7±2,2 <sup>*2</sup>	42,9±2,1 <sup>*2</sup>
СОД	усл. ед./мл	11,3±0,6	6,9±0,3 <sup>*1</sup>	7,8±0,4 <sup>*1,2</sup>	8,9±0,8 <sup>*1,2</sup>	10,5±0,4 <sup>*2,4</sup>
Кат	мкат/л	13,1±0,7	9,4±0,5 <sup>*1</sup>	11,2 ±0,5 <sup>*1,2</sup>	14,1±0,8 <sup>*2,3</sup>	13,7±1,1 <sup>*2,3</sup>
СМ <sub>ON</sub>	мкмоль/л	6,9±0,3	4,1±0,2 <sup>*1</sup>	4,7±0,3 <sup>*1</sup>	5,7±0,5 <sup>*1-3</sup>	6,0±0,3 <sup>*1-3</sup>

Таблица 3

Функционально-метаболическая активность эритроцитов и полиморфноядерных лейкоцитов крови на фоне длительной интоксикации этанолом; коррекция нарушений (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Контроль	Интоксикация этанолом			
			-	Введение КГ	Введение АГ	Введение КЖАГ
МДА	мкмоль/л	0,5±0,06	0,98±0,05 <sup>*1</sup>	0,72±0,05 <sup>*1,2</sup>	0,59±0,04 <sup>*2,3</sup>	0,53±0,03 <sup>*2,3</sup>
АГП	усл. ед.	0,14±0,01	0,43±0,03 <sup>*1</sup>	0,31±0,02 <sup>*1,2</sup>	0,22±0,03 <sup>*1-3</sup>	0,2±0,02 <sup>*1-3</sup>
СОД	усл. ед./мл	29,1±1,3	17,6±1,3 <sup>*1</sup>	24,0±0,9 <sup>*1,2</sup>	25,3±1,3 <sup>*1,2</sup>	27,6±1,2 <sup>*2,3</sup>
Каталаза	мкат/л	10,9±0,6	6,2±0,2 <sup>*1</sup>	8,2 ±0,7 <sup>*1,2</sup>	10,0±0,7 <sup>*2,3</sup>	10,6±0,7 <sup>*2,3</sup>
СМ <sub>ON</sub>	мкмоль/л	4,8±0,1	2,2±0,08 <sup>*1</sup>	3,6±0,2 <sup>*1,2</sup>	4,5±0,2 <sup>*2,3</sup>	4,9±0,3 <sup>*2,3</sup>
ССЭ	%	53,5±1,5	27,2±2,1 <sup>*1</sup>	33,5±3,2 <sup>*1,2</sup>	42,2±2,3 <sup>*1-3</sup>	43,3±2,26 <sup>*1-3</sup>
СЕГ	10 <sup>12</sup> г/эр	2,8±0,1	1,3±0,1 <sup>*1</sup>	2,5 ±0,2 <sup>*2</sup>	2,7±0,1 <sup>*2</sup>	2,4±0,3 <sup>*2</sup>
ФП	%	74,6±1,7	56,2±3,0 <sup>*1</sup>	65,1±2,1 <sup>*1,2</sup>	62,5±2,1 <sup>*1,2</sup>	64,4±2,7 <sup>*1,2</sup>
ФЧ	абс.	2,9±0,08	2,0±0,03 <sup>*1</sup>	2,8±0,1 <sup>*2</sup>	3,0±0,1 <sup>*2</sup>	2,8±0,1 <sup>*2</sup>
ИАФ	—	2,16±0,04	1,12±0,02 <sup>*1</sup>	1,82±0,05 <sup>*1,2</sup>	1,86±0,07 <sup>*1,2</sup>	1,8±0,04 <sup>*1,2</sup>
НСТ-сп.	%	10,1±1,3	15,5±1,8 <sup>*1</sup>	14,9±1,2 <sup>*1</sup>	12,9±1,1 <sup>*1,2</sup>	11,4±1,0 <sup>*2,3</sup>
НСТ-ст.	%	22,5±2,4	29,8±2,1 <sup>*1</sup>	27,4±1,3 <sup>*1</sup>	25,8±2,0	23,1±1,0 <sup>*2,3</sup>
ФРН	—	12,4±1,1	14,3±0,9 <sup>*1</sup>	12,5±1,1 <sup>*2</sup>	12,9±0,9 <sup>*2</sup>	11,7±1,3 <sup>*2</sup>
ИСН	—	2,23±0,2	1,92±0,2	1,84±0,2	2,0±0,1	2,02±0,09

Введение КГ нормализовало ОАА, корригировало содержание продуктов ПОЛ и активность ферментов антиоксидантной защиты. Применение АГ, по сравнению с КГ, дополнительно нормализовало активность каталазы, в еще большей степени приближало к параметрам нормы концентрацию МДГ, АГП и СМ<sub>NO</sub>. Использование КЖАГ, по сравнению с предыдущей группой экспериментальных животных, дополнительно нормализует активность СОД и в еще большей степени корригирует содержание продуктов ПОЛ (табл. 2).

При оценке показателей функциональной активности эритроцитов циркулирующей крови по сравнению с контролем при ХАИ установлено повышение продуктов ПОЛ (МДА, АГП), снижение активности ферментов антиоксидантной защиты (СОД, каталаза), СМ<sub>NO</sub> и сорбционных свойств мембраны красных клеток крови (ССЭ, СЭГ). Применение КГ нормализовало сорбционную емкость гликокаликса и корригировало остальные использованные параметры функцио-

нальной активности эритроцитов. Использование АГ, по сравнению с КГ, дополнительно нормализовало уровень МДА, СМ<sub>NO</sub>, активность каталазы, корригировало в еще большей степени АГП и сорбционную способность эритроцитов. Введение КЖАГ, по сравнению с АГ, нормализовало активность СОД и в большей степени приближало к значениям нормы ССЭ (табл. 3).

В отношении функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови отмечено снижение их фагоцитарной способности (снижение ФП, ФЧ, ИАФ) при активации кислородзависимого метаболизма (повышение НСТ-спонтанного и стимулированного зимозаном и ФРН). Использование КГ нормализовало ФЧ, ФРН, корригировало в сторону контроля ФП и ИАФ. Введение АГ дополнительно нормализовало НСТ-ст. и корригировало НСТ-сп., а использование КЖАГ, по сравнению с АГ, нормализовало НСТ-сп. (табл. 3).

Таким образом, длительная интоксикация этанолом приводит к изменению от параметров

нормы 29 из 30 (96,7%) исследованных показателей метаболизма. Полученные данные позволяют заключить, что у животных на фоне ХАИ наблюдается развитие основных биохимических синдромов поражения печени: цитолитического, внутриклеточного холестаза, токсического поражения по иммуно-воспалительному типу и недостаточности синтетических процессов. Помимо этого, в этих условиях развиваются «окислительный стресс» и нарушения функционально-метаболической активности эритроцитов и нейтрофилов периферической крови (табл. 4).

Введение на этом фоне КГ нормализовало 20,7% измененных как следствие ХАИ метаболических показателей крови, корригировало, но не значений нормы, 62,1%, а 17,2% параметров остались без изменения. Применение АГ соответственно нормализовало и корригировало 44,8% и 55,2% показателей. Самым эффективным оказалось применение КЖАГ, т.к. его использование в условиях ХАИ нормализовало и корригировало соответственно 69,0% и 31,0% измененных до применения клеточных технологий метаболических параметров. Следовательно, введение ксено-, а также, в большей степени, аллогенных гепатоцитов и, особенно, культуральной жидкости последних реципиентам с ХАИ ограничивает процессы свободнорадикального окисления, системную воспалительную реакцию на уровне врожденных механизмов иммунитета, оказывает значительные положительные эффекты по восстановлению функциональной активности гепатоцитов и внутриэритроцитарного метаболизма.

Специализированные клетки печени (гепатоциты) стали одним из первых типов клеток, использованных для клинических целей – клеточной терапии больных с врожденными и приобретенными дефектами печени. Интерес к ним с научной и практической стороны в настоящее время усилился в еще большей степени в связи с тем, что единственным способом лечения недо-

статочности печени, как исхода вирусных, аутоиммунных гепатитов, наследственных заболеваний и интоксикаций, является недостаток донорских органов [3, 4].

В настоящее время механизм действия гепатоцитов, применяемых для коррекции поврежденной ткани печени нельзя считать окончательно выясненным. Ряд авторов полагают, что лечебный эффект связан с органозамещающей функцией [26]. В настоящее время доказано, что трансплантированные изолированные стволовые клетки, гепатоциты не столько увеличивают функциональную массу печени, сколько изменяют гуморальные и молекулярные механизмы, отвечающие за активацию функции оставшихся гепатоцитов реципиента и регенерацию, путем выработки низкомолекулярных гуморальных факторов [9, 10, 13, 21, 23].

Имеющимися проблемами в этой области, требующими дальнейшего решения, являются характеристика состояния вводимых клеток, способы их введения, определение количества вводимых клеток [3, 4, 14, 22]. Наряду с этим требуют своего дальнейшего исследования механизмы метаболической коррекции имплантированных гепатоцитов. Перспективным является выделение из культуральной жидкости гепатоцитов «действующего» начала. Одним из оснований для этого являются полученные ранее в нашей лаборатории факты о том, что не только трансплантация аллогенных интактных гепатоцитов, но и введение полученной на их основе культуральной жидкости, реципиентам с экспериментальной гипоксией печени, острым токсическим гепатитом, вызванным четыреххлористым углеродом, значительно снижают развитие в печени иммуновоспалительного синдрома, нормализуют синтетическую функцию гепатоцитов, предотвращают развитие окислительного стресса и нарушения врожденного иммунитета [7, 15, 16, 19].

Таблица 4

Сравнительное влияние ксено- и аллогенных гепатоцитов на показатели метаболизма крови в условиях длительной интоксикации этанолом

Условия опыта	Измененные лабораторные показатели после интоксикации этанолом (%)	Из них после проведения коррекции (%):		
		нормализованы	корригированы	не изменены
Интоксикация этанолом и введение КГ	96,7	20,7	62,1	17,2
Интоксикация этанолом и введение АГ		44,8	55,2	0
Интоксикация этанолом и ведение КЖАГ		69	46,7	0

ЛИТЕРАТУРА

1. Антоненко О.М. Токсические поражения печени: пути фармакологической коррекции // Медицинский совет. – 2013. – № 6 – С. 45-51.
2. Верхулецкий И.Е., Синенупов Н.А., Синенупов Д.Н., Медведев А.Ф., Пирогова И.Ю., Пономарева И.Ю., Синицын С.П., Самохина Е.П., Горбунова А.С., Старцева Е.Ю., Чулков В.С., Кондратьева Т.Ф. Исходы токсических гепатитов, вызванных суррогатами алкоголя // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2013. – № 6. – С. 49-56.
3. Долгих М.С. Клинический опыт трансплантации гепатоцитов для лечения печеночной недостаточности // Клиническая медицина. – 2012. – Т. 90, № 4. – С. 18-22.
4. Евсеева М.Н., Шептулина А.Ф., Рубцов Ю.П. Перспективы создания аутологичных гепатоцитов для лечения печеночной недостаточности // РЖГГК. – 2015. – № 6. – С. 49-57.
5. Зинкин В.Ю., Годков В.Г. Способ оценки кислород-зависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов человека // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2004. – № 8. – С. 26-29.
6. Иванов Д.В., Рязанов А.И., Хадарцев А.А. Трансплантация гепатоцитов в лечении заболеваний печени – настоящее и будущее // Вестник новых медицинских технологий. – 2006. – Т. 13, № 3. – С. 39-44.
7. Конопля А.И., Литвинова Е.С., Быстрова Н.А., Разумова М.С., Чуева Т.В. Иммунометаболические нарушения при экспериментальном остром токсическом поражении печени: коррекция ксеногенными и аллогенными гепатоцитами // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. XVIII, № 2. – С. 91-98.
8. Конопля А.И., Локтионов А.Л., Дудка В.В., Долгарева С.А., Сорокин А.В., Бушмина О.Н. Хроническая интоксикация этанолом: метаболические изменения, коррекция нарушений // Токсикологический вестник. – 2015. – № 5. – С. 25-30.
9. Лепехова С.А., Апарцин К.А., Зарицкая Л.В., Постовая О.Н., Батунова Е.В., Прокопьев М.В., Каргин А.Г., Рой Т.А., Коваль Е.В. Влияние ксенотрансплантации культуры клеток печени на изменения неспецифической резистентности организма при остром токсическом повреждении печени // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 7. – С. 101-104.
10. Лепехова С.А., Апарцин К.А., Искра А.И. Роль фактора роста гепатоцитов в регенерации печени // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 2. – С. 187-192.
11. Литвинова Е.С., Терехова С.В., Быстрова Н.А., Гаврилюк В.П. Иммунометаболический статус у интактных животных при введении культуральной жидкости аллогенных гепатоцитов, гептрала и мексикора // Врач-аспирант. – 2012. – № 3.2 (52). – С. 315-319.
12. Ляндуп А.В., Онищенко Н.А., Шагидулин М.Ю., Крашениников М.Е. Стволовые/прогениторные клетки печени и костного мозга как регуляторы восстановительной регенерации поврежденной печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, № 2. – С. 100-107.
13. Медведева С.Ю., Мухлынина Е.А., Булавинцева Т.С., Данилова И.Г. Участие фактора стволовой клетки в репаративной регенерации печени при ее токсическом повреждении // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17, специальный выпуск – С. 32.
14. Монголов Х.П., Плеханов А.Н., Товаршинов А.И. Трансплантация гепатоцитов при печеночной недостаточности: от эксперимента к клинике (обзор литературы) // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2009. – № 3. – С. 143-148.
15. Разумова М.С., Литвинова Е.С., Быстрова Н.А., Локтионов А.Л. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов периферической крови при использовании ксено-, аллогенных гепатоцитов, фибробластов и их культуральной жидкости при экспериментальном остром токсическом поражении печени // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2015. – Т. 14, № 4. – С. 714-720.
16. Разумова М.С., Литвинова Е.С., Быстрова Н.А., Чуева Т.В. Метаболическая активность культуральной жидкости ксеногенных, аллогенных гепатоцитов и фибробластов в условиях экспериментального острого тетрахлометанового поражения печени // Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2016. – № 2. – С. 74-80.
17. Семко Г.А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 113-118.
18. Сиволан Ю.П. Связанные с употреблением алкоголя расстройства: новые подходы к диагностике и лечению // Журнал невропатологии и психиатрии. – 2015. – № 9. – С. 23-27.
19. Терехова С.В., Быстрова Н.А., Литвинова Е.С., Гаврилюк Е.В. Коррекция аллогенными гепатоцитами иммунометаболических нарушений при экспериментальной ишемии печени // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 414-417.
20. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В. Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.
21. Умбаев Б.А., Аскарлова Ш.Н., Шалахметова Т.М., Цой А.К., Буланин Д.С. Внутривисцеральная трансплантация аллогенных гепатоцитов крысам с индуцированным токсическим циррозом печени // Вестник КазНУ. Серия экологическая. – 2014. – Т. 1/2, № 40. – С. 261-270.
22. Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашениников М.Е. Трансплантация гепатоцитов как метод лечения печеночной недостаточности: экспериментальный и клинический опыт // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 53-60.
23. Шендер Э.М., Колосов А.Е. Закономерности регенерации гепатоцитов после трансплантации фетальных тканей печени при циррозе печени у

- крыс // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. XVI, № 3. – С. 25-26.
24. Шилов В.В., Шикалова И.А., Васильев С.А., Батоцыренов Б.В., Андрианов А.Ю. Коррекция метаболических расстройств в лечении алкогольных поражений печени у больных с острыми отравлениями алкоголем // Клиническая медицина. – 2013. – Т. 91, № 2. – С. 45-48.
25. Berry M.N., Friend D.S. High-Yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells // The Journal of Cell Biology. – 1969. – Vol. 43, N 3. – P. 506-520.
26. Liu K.X., Kato Y., Matsumoto K., Nakamura T., Kaku T., Sugiyama Y. Characterization of the enhancing effect of protamine on the proliferative activity of hepatocyte growth factor in rat hepatocytes // Pharm Res. – 2009. – Vol. 26, N 4. – P. 1012-1021. – doi: 10.1007/s11095-008-9810-1.
27. Mato J.M., Cámara J., Fernández de Paz J., Caballería L., Coll S., Caballero A., García-Buey L., Beltrán J., Benita V., Caballería J., Solà R., Moreno-Otero R., Barrao F., Martín-Duce A., Correa J.A., Parés A., Barrao E., García-Magaz I., Puerta J.L., Moreno J., Boissard G., Ortiz P., Rodés J. S-adenosylmethionine in alcoholic liver cirrhosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multi-center clinical trial // J. Hepatol. – 1999. – Vol. 30, N 6. – P. 1081-1089.
28. Nutt D.J., Rehm J., van den Brink W., Gorwood P., Buchsbaum M.S. Progress in mind: focus on alcohol use disorders, an elsevier resource centre // Psychiatry Res. – 2015. – Vol. 226, N 2-3. – P. 513-514. – doi: 10.1016/j.psychres.2015.01.013.
29. Rehm J., Sulkowska U., Mańczuk M., Boffetta P., Powles J., Popova S., Zatoński W. Alcohol accounts for a high proportion of premature mortality in central and eastern Europe // Int J Epidemiol. – 2007. – Vol. 36, N 2. – P. 458-467. – doi: 10.1093/ije/dyl294.
30. WHO Global Status Report on Alcohol and Health 2014. – Geneva: World Health Organization, 2014. – 376 p.