

3. Wang, G.W. Metallothionein inhibits doxorubicin-induced mitochondrial cytochrome c release and caspase-3 activation in cardiomyocytes / G.W. Wang, J.B. Klein, Y.J. Kang // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2001. – Vol. 298, № 2. – P. 461–468.

4. Cupric nitrilotriacetate-induced apoptosis in HL-60 cells association with lipid peroxidation, release of cytochrome C from mitochondria, and activation of caspase-3 / Y. Ma [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 1999. – Vol.27, № 1–2. – P. 227–233.

5. Тамашевский, А.В. Биофизические механизмы регуляции активности мембранных белков, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью лимфоцитов человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / А.В. Тамашевский. Мн. : ИБиКИ, 2014. 23 с.

УДК 612.1/.8

**Гитман Т.А., Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю.
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АЛЛОГЕННЫХ ММСК НА
РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО
СМОДЕЛИРОВАННОГО ВТОРИЧНОГО БИЛИАРНОГО ЦИРРОЗА
ПЕЧЕНИ**

Кафедра патологической физиологии
Уральский государственный медицинский университет
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Екатеринбург, Российская Федерация

**Gitman T.A., Maklakova I.Yu., Grebnev D.Yu.
STUDY OF THE EFFECTS OF ALLOGENEIC MMSC ON LIVER
REGENERATION UNDER EXPERIMENTAL SIMULATED SECONDARY
BILIARY CIRRHOSIS**

Department of pathological physiology
Ural state medical university
«Institute of medical cell technologies»
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: cardinalis14@gmail.com

Аннотация. Целью настоящего исследования было оценить влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на изменения биохимических показателей крови в условиях цирроза печени. Через две недели после перевязки общего желчного протока и подтверждения развившегося цирроза, опытной группе мышей в хвостовую вену вводились ММСК в дозе 4 млн кл./кг массы тела. После выведения животных из эксперимента проводилось сравнение биохимических показателей крови контрольной и экспериментальной групп.

Ключевые слова: цирроз печени, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, биохимические показатели крови.

Annotation. The aim of this study was to assess the effect of multipotent mesenchymal stromal cells on changes in blood biochemical parameters in liver cirrhosis. Two weeks after the ligation of the common bile duct and confirmation of the developed cirrhosis, the experimental group of mice were injected with MMSC in a dose of 4 million cells/kg of body weight. After the animals were removed from the experiment, the biochemical parameters of the blood of the control and experimental groups were compared.

Key words: liver cirrhosis, multipotent mesenchymal stromal cells, bile duct ligation, biochemical parameters of blood.

Введение

Цирроз печени является хроническим заболеванием, сопровождающимся диффузным разрастанием соединительной ткани и структурной деформацией органа. Это состояние необратимо прогрессирует к декомпенсированной стадии, продолжительность жизни при которой составляет не более 2 лет [1]. Единственным методом лечения цирроза в этой стадии является трансплантация печени. В настоящее время из-за быстрого роста количества больных, нехватки донорских органов и всегда имеющегося риска иммунологического отторжения наиболее прогрессивным методом лечения цирроза становится применение инструментов клеточной терапии [2]. В этой связи наибольший интерес представляет использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток ввиду их охарактеризованных морфофункциональных свойств [4,5].

Цель исследования – оценить влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на регенерацию печени мышей после экспериментально смоделированного вторичного билиарного цирроза.

Материалы и методы исследования

Исследование проводили на 14 белых лабораторных мышах-самцах.

Клеточную культуру ММСК получали из плодной части плаценты (хориона) 5 лабораторных мышей-самок в сроке беременности 14 дней.

Культивирование ММСК проводилось в условиях CO₂ – инкубатора при температуре 37 °С с содержанием углекислого газа 5% и влажностью 90 %. Замена среды в объеме ½ от первоначального производилась каждые 3 - 4 суток до достижения клетками 70 – 80 % конfluence. Для трансплантации лабораторным животным были использованы клетки третьего пассажа.

Моделирование вторичного билиарного цирроза проводилось путем наложения лигатуры на общий желчный проток [3]. Для внутримышечного наркоза использовали золетил в объеме 0,07 и ксилазин в объеме 0,05 мл. Смесь доводили до 1 мл 0,9% раствором натрия хлорида. Животным вводили по 0,6 мл готового раствора. После наркотизации животное фиксировали на операционном столе. На передней брюшной стенке производился медианный разрез длиной 2 см. Для расширения брюшной полости мечевидный отросток прошивался нитью и фиксировался в натяжении к поверхности операционного стола, на края раны накладывались зажимы. С помощью смоченного 0,9 %

раствором NaCl тампона печень приподнималась так, чтобы ее вентральная сторона прилежала к диафрагме и были видны ворота печени. Для выделения желчного протока кишечник оттягивался вниз. Затем желчный проток отделялся пинцетом от прилегающих к нему по бокам воротной вены и печеночной артерии, после чего под протоком протягивалась шовная нить и завязывалась над ним тремя хирургическими узлами. После перевязки протока брюшная полость обрабатывалась 0,9% раствором NaCl, на рану накладывался кисетный шов.

После операции животные содержались в виварии при свободном доступе к пище и воде. Через 2 недели после наложения лигатуры на общий желчный проток мышам вводили мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки в хвостовую вену в дозе 4 млн кл./кг массы тела. Контрольной группе животных вводили раствор NaCl. Через 2 недели после введения ММСК животные выводились из эксперимента. Производили забор крови и аутопсию печени. Образцы крови для биохимического анализа отбирались посредством введения шприца в полость левого желудочка. Для подтверждения формирования цирроза анализировали морфологические изменения в печени – образование ложных долек и разрастание соединительной ткани с формированием септ, а также биохимические показатели: общий белок, аминотрансферазы – АСТ, АЛТ, глюкоза, общий билирубин, щелочная фосфатаза, альбумин и мочевины.

Достоверность отличий в сравниваемых выборках проведено с применением непараметрического (рангового) метода Манна-Уитни. Статистическая обработка данных проведена с помощью программного пакета SPSS Statistics (версия 17,0).

Результаты исследования и их обсуждение

В физиологических условиях (без перевязки желчного протока) введение ММСК не привело к значимым изменениям биохимических показателей периферической крови.

Как показали результаты проведенных биохимических исследований, при циррозе печени содержание общего белка и альбумина в сыворотке было ниже нормы на 35,6% и 21,5% соответственно. АЛТ, АСТ, общий билирубин и щелочная фосфатаза превышали нормальные значения в 7; 5,8; 2 и 2,1 раз.

В контрольной группе животных через 4 недели после наложения лигатуры на общий желчный проток были отмечены следующие изменения биохимических показателей: понижение общего белка и альбумина на 12,7% и 32,2%; повышение уровня общего билирубина, АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы на 10,8%; 13,2%; 12,7% и 33,9%, соответственно. По сравнению с контрольной группой в группе животных, которым производилась трансплантация ММСК, наблюдались улучшения биохимических показателей печени, характеризующих цитолитический синдром. Так, содержание АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы в сыворотке крови в экспериментальной группе

животных по сравнению с контрольной снизилось на 24,6%; 27,1% и 22,3% (рисунок 1).

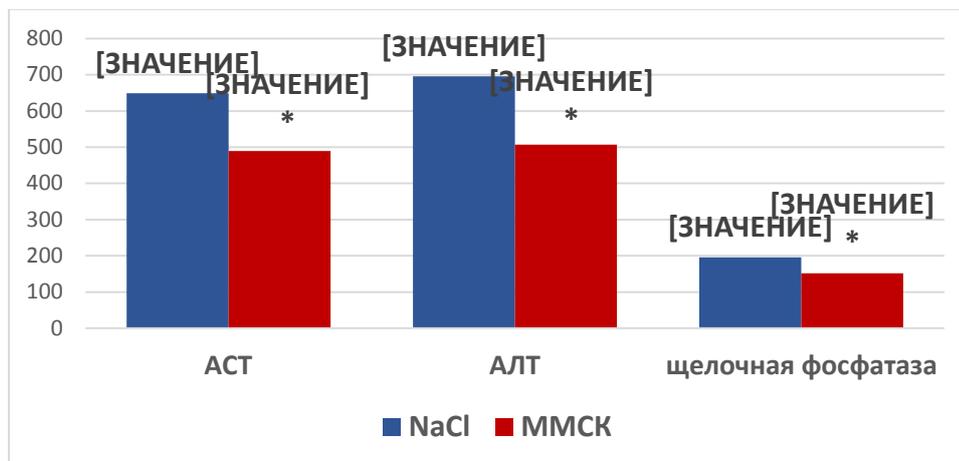


Рис. 1. Изменения уровней ферментов, характеризующих цитолитический синдром после введения ММСК на фоне цирроза печени (n=7).

Примечание: * отличие от контрольной группы лабораторных животных, достоверно с $p < 0,05$.

При анализе остальных биохимических показателей крови опытной и контрольной групп животных достоверных изменений не обнаружено (рисунок 2).

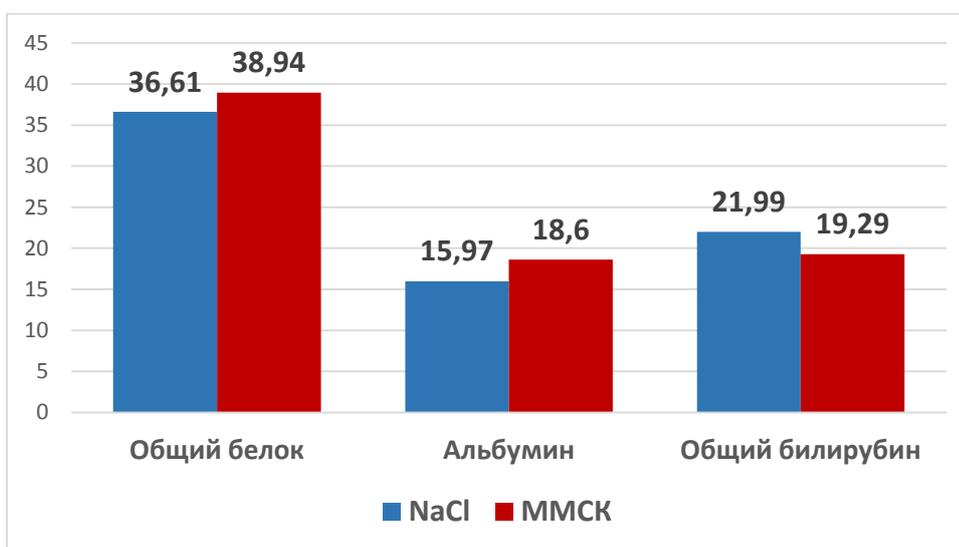


Рис. 2. Изменения некоторых биохимических показателей крови лабораторных животных после введения ММСК на фоне цирроза печени (n=7).

Выводы:

1. При введении ММСК в физиологических условиях не наблюдалось изменений биохимических показателей крови;

2. После введения ММСК животным со сформировавшимся циррозом печени отмечалось снижение показателей цитолиза, однако, значения АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы все равно находились на уровне, во много раз превосходящим значения до моделирования цирроза;

3. Существенных изменений по другим биохимическим показателям периферической крови отмечено не было.

Список литературы:

1. Агаев Б.А. Экспериментальное исследование аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в лечении цирроза печени / Б.А. Агаев, Р.М. Агаев, А.Г. Попандопуло, Р.Э. Джафарли // Гены и клетки. – 2014. – Т.9. – №1. – С. 58-63.

2. Александров В.Н. Клеточная терапия цирроза печени / В.Н. Александров, Т.А. Камилова, Л.И. Калюжная, А.В. Кривенцов, Д.В. Фирсанов, В.С. Чирский, Д.И. Григорьевский // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2014. – Т.1. – №45. – С.197-202.

3. Арутюнян, И.В. Моделирование цирроза печени на лабораторных животных / И.В. Арутюнян, А.В. Макаров, Т.Х. Фатхудинов, Г.Б. Большакова // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2012. – Т.2. – №2. – С.45-50.

4. Пирогова И.Ю. Регенерационная терапия хронических гепатитов и циррозов печени с помощью трансплантации фетальных тканей / И.Ю. Пирогова, С.А. Пышкин // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия – 2008. – Т.3. – №1. – С.57-61.

5. Aggarwal S. Human Mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses / Aggarwal S., Pittenger M. F. // Blood. – 2005. – V.4. – P.1815-1822.

УДК 612.123

**Демина Н.Р., Мамисмедашвили Л.В., Климушева Н.Ф., Лукаш В.А.
ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА НА РАЗНЫХ СРОКАХ
БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА**

Кафедра биохимии

Уральский государственный медицинский университет,
ГБУЗ СО Свердловская областная клиническая больница №1,
отделение эндокринологии
Екатеринбург, Российская Федерация

**Demina N.R., Mamismedashvili L.V., Klimusheva N.F.*, Lukash V.A.
PECULIARITIES OF THE LIPID METABOLISM IN PREGNANT WOMEN
AT DIFFERENT GESTATIONAL AGE WITH TYPE I DIABETES**

Department of Biochemistry
Ural state medical university,
Sverdlovsk regional clinical hospital №1,
Department of endocrinology
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: lmamismedashvili@mail.ru