

пуриновые и пиримидиновые нуклеозиды [3, 5]. Предположительно, в условиях дефицита NO может изменяться активность ENT транспортеров, что отражается на увеличении внутриклеточной концентрации субстратов и вносит свой вклад в повышении степени эндогенной интоксикации.

### **Выводы**

Получение L-NAME животными в дозе 25 мг/кг массы тела привело к снижению продукции оксида азота (II). Дефицит NO способствовал накоплению малонового диальдегида в эритроцитах крыс, что свидетельствует о индукции перекисного окисления липидов мембран. Изменение функционирования мембран привело к повышению содержания веществ низкой и средней молекулярной массы, что служит критерием повышения степени эндогенной интоксикации эритроцитов.

### **Список литературы**

1. Кручинский, Н. Г. Клинико-лабораторные проявления синдрома эндогенной интоксикации у высококвалифицированных спортсменов циклических видов спорта / Н. Г. Кручинский, М. П. Королевич, Е. А. Стаценко // Здоровье для всех. – 2015. – № 1. – С. 11-17.
2. Узбеков, М. Г. Эндогенная интоксикация и ее роль в патогенетических механизмах психических расстройств / М. Г. Узбеков // Социальная и клиническая психиатрия. – 2019. – Т. 29. – № 4. – С. 14-20.
3. Baldwin S.A., Beal P.R., Yao S.Y. et al. The equilibrative nucleoside transporter family, SLC29 // Pflugers Arch. – 2004. – Vol. 447(5). – P. 735 – 743.
4. Hummel S. G., Fischer A. J., Martin S. M., Schafer F. Q., Buettner G. R. Nitric oxide as a cellular antioxidant: a little goes a long way. Free Radical Biology and Medicine. 2006;40(3):501–506. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.047
5. Stefan C., Jansen S., Bollen M. Modulation of purinergic signaling by NPP-type ectophosphodiesterases // Purinergic Signalling. – 2006. – No 2. – P. 361–370.

УДК 616-092.9

**<sup>1</sup>Пономарева Ю.А., <sup>1</sup>Туремуратова Д.Ж., <sup>1,2</sup>Маклакова И.Ю.  
АКТИВАЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ  
ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С ПОМОЩЬЮ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

Кафедра патологической физиологии

<sup>1</sup>-Уральский государственный медицинский университет

<sup>2</sup>-ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Екатеринбург, Российская Федерация

**<sup>1</sup>Ponomareva Yu.A., <sup>1</sup>Turemuratova D.Zh., <sup>1,2</sup>Maklakova I.Yu.  
ACTIVATION OF LIVER REGENERATION IN CONDITIONS OF  
TOXIC HEPATITIS USING STEM CELLS**

Department of Pathological Physiology

<sup>1</sup>-Ural State Medical University  
<sup>2</sup>-Institute of medical cell technologies  
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: [ponomarevayulia256@gmail.com](mailto:ponomarevayulia256@gmail.com), [tudemuratova.dinara99@gmail.com](mailto:tudemuratova.dinara99@gmail.com)

### **Аннотация**

Исследование посвящено изучению влияния стволовых клеток - мультипотентных мезенхимальных стромальных (ММСК) и гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) на регенерацию печени после ее токсического повреждения. В статье представлены результаты морфометрического исследования печени мышей и данные биохимических показателей крови после введения стволовых клеток в условиях токсического гепатита. В результате исследования получено, что сочетанное введение двух видов стволовых клеток (ММСК и ГСК) животным с токсическим повреждением печени способствует активации клеточной и внутриклеточной регенерации печени, снижению уровня ферментов, характеризующих цитолиз гепатоцитов и холестаза, восстановлению белковосинтетической функции печени.

### **Annotation**

The study is devoted to the study of the effect of stem cells - multipotent mesenchymal stromal (MMSC) and hematopoietic stem cells (HSC) on liver regeneration after toxic damage. The article presents the results of a morphometric study of the liver of mice and data on the biochemical parameters of peripheral blood after the introduction of stem cells in conditions of toxic hepatitis. As a result of the study, it was found that the combined administration of two types of stem cells (MMSC and HSC) to animals with toxic liver damage promotes the activation of cellular and intracellular liver regeneration, a decrease in the level of enzymes characterizing the cytolysis of hepatocytes and cholestasis, and the restoration of the protein-synthetic function of the liver.

**Ключевые слова:** острый токсический гепатит, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, гемопоэтические стволовые клетки, регенерация печени.

**Key words:** acute toxic hepatitis, multipotent mesenchymal stromal cells, hematopoietic stem cells, liver regeneration.

### **Введение**

В связи с возрастанием медицинской и социальной значимости заболеваний печени в настоящее время, требуются новые усилия в разработке вопросов этиологии, патогенеза, иммунологии, диагностики, лечения и профилактики этих заболеваний.

В связи с антропогенной деятельностью токсические агенты всё чаще попадают в продукты питания. Главным объектом токсического воздействия

является печень. В связи с этим представляется целесообразным поиск наиболее эффективных методов лечения токсического гепатита [2].

В настоящее время активно развивается регенеративная медицина, которая занимается восстановлением повреждённых тканей и органов при помощи стволовых клеток. Для клинической практики большие перспективы открывает использование эмбриональных стволовых клеток [5], однако их широкому использованию препятствуют этические моменты и проблемы гистосовместимости. Наибольший интерес сегодня представляют гемопоэтические (ГСК) и мезенхимальные мультипотентные стволовые клетки (ММСК) [3,5].

**Цель исследования** - оценить регенерацию печени мышей после сочетанного введения ММСК и ГСК при остром токсическом повреждении печени.

**Задачи:**

1. Оценить изменение биохимических показателей периферической крови у мышей после введения стволовых клеток в условиях токсического повреждения печени;
2. Оценить изменение морфометрических показателей печени мышей после введения стволовых клеток в условиях токсического гепатита.

#### **Материалы и методы исследования**

Исследование было проведено на 18 половозрелых беспородных мышам-самцах и на 3 мышам-самцах в качестве интактной группы, содержащихся в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме и со свободным доступом к воде и пище.

ММСК и ГСК выделяли из хориона плаценты мышей-самок. Культивирование ММСК проводилось в условиях CO<sub>2</sub> – инкубатора (Termo Scientific, США) при температуре 37 °С с содержанием углекислого газа 5% и влажностью 90 %. Идентификация ММСК и ГСК проводилась на проточном цитометре Beckman Coulter Navios. Жизнеспособность клеток была определена с помощью суправитальной окраски раствором трипанового синего и перед трансплантацией составила 95 – 97 %.

Животные были разделены на группы: интактная группа – 3 мыши без моделирования токсического гепатита и без ММСК+ГСК, экспериментальная группа – 9 мышей с моделированием токсического гепатита и введением ММСК+ГСК в дозе 4 млн. клеток/кг и 330 тыс. клеток/кг, суспендированные в 0,2 мл 0,9 % раствора NaCl и контрольная группа – 9 мышей с моделированием токсического гепатита, но без введения клеток.

Для моделирования токсического поражения печени применяли внутримышечное введение 10% раствора тетрахлорметана на подсолнечном масле дозой 50 мкг/кг массы тела. В сыворотке крови животных на 1, 3, 7 сутки после введения клеток измеряли уровень общего белка, альбумина, общего билирубина, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы и фибриноген. На

гистологических срезах проводилась оценка морфометрических показателей: количество гепатоцитов на 1 мм<sup>2</sup>, площадь гепатоцитов, площадь ядра гепатоцитов, площадь цитоплазмы гепатоцитов, ЯЦИ, количество двуядерных гепатоцитов на мм<sup>2</sup>, митотический индекс, апоптотический индекс. Выраженность апоптоза оценивалась с использованием метода AporTag® Peroxidase In Situ Oligo Ligation (ISOL) (Millipore, США). Апоптотический индекс определялся как отношение числа клеток в состоянии апоптоза к общему числу подсчитанных гепатоцитов

Работа выполнена на базе экспериментальной лаборатории кафедры патологической физиологии, под руководством доцента, к.м.н., Маклаковой Ирины Юрьевны.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

В результате проведённых исследований были выявлены статистически значимые изменения биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние печени животных с моделью токсического гепатита по сравнению со значениями контрольной группы мышей.

Полученные результаты показали, что уровень АЛТ и АСТ в первые же сутки эксперимента резко возрастает в экспериментальной и контрольной группах по сравнению с интактной. Далее показатели постепенно снижаются по прошествии 3-х, 7-х суток в обеих группах, но у животных экспериментальной группы снижение уровня ферментов, характеризующих цитолиз гепатоцитов, происходит активнее.

Уровень общего белка и альбумина в экспериментальной и контрольной группах ниже по сравнению с интактной на протяжении всего эксперимента. При введении ММСК+ГСК к 7-м суткам уровень белка в экспериментальной группе практически возвратился к уровню в 1-е сутки. В контрольной группе с введением NaCl такого активного восстановления функций печени не происходит.

В результате исследования получено, что токсическое поражение печени сопровождается снижением уровня глюкозы. Гипогликемия в первый день в экспериментальной и контрольной группах может быть связана с нарушением глюконеогенеза в печени при токсическом гепатите. На 3-е и 7-е сутки уровень глюкозы постепенно повышается в обеих группах, что может говорить о восстановлении углеводного обмена. В экспериментальной группе с введенными ММСК+ГСК восстановление уровня глюкозы происходит активнее.

Повышение активности щелочной фосфатазы на 1-е сутки указывает на синдром холестаза. На 7-е сутки показатель экспериментальной группы значительно снизился в сравнении с контрольной, что может говорить о снижении процессов воспаления в печени.

Количество двуядерных гепатоцитов в 1-е сутки резко увеличилось в обеих группах по сравнению с интактной. Затем на 3-7-е сутки наблюдалось постепенное снижение показателя, но при этом в экспериментальной группе

показатели на протяжении всего эксперимента больше, чем у контрольной группы.

Изменение ядерно-цитоплазматического индекса у контрольной группы проявляется снижением на 3-е сутки и повышением на 7-е сутки. В экспериментальной группе наблюдается постепенное увеличение к 7-м суткам ядерно-цитоплазматического индекса за счет увеличения площади ядра.

Увеличение таких показателей, как площадь ядра, количество двуядерных гепатоцитов и ядерно-цитоплазматический индекс, характеризует активацию внутриклеточной регенерации в контрольной и экспериментальной группах. Митотический индекс и апоптотический индекс (Рис. 1) резко увеличены в обеих группах по сравнению с интактной. При этом в экспериментальной группе с введенными ММСК+ГСК митотический индекс выше, чем у контрольной группы. На 3-7-е сутки наблюдается снижение апоптотического индекса, причем в группе с введенными ММСК+ГСК на протяжении всего эксперимента данный показатель ниже, чем у группы с NaCl.

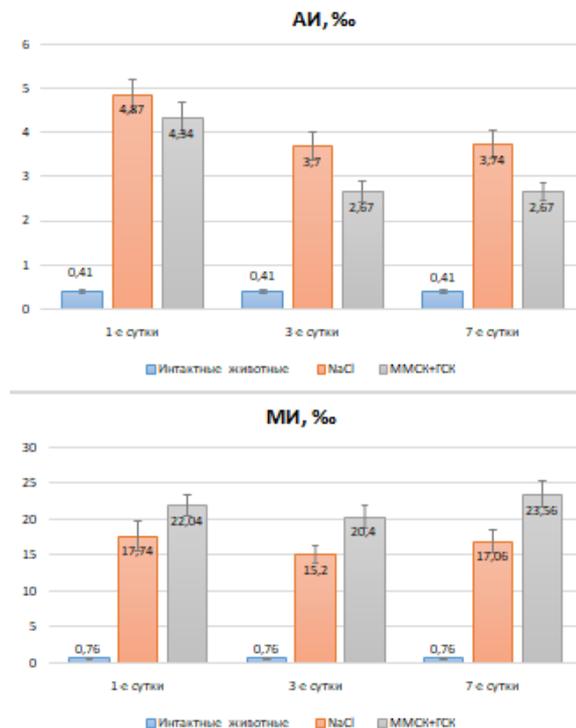


Рис.1. Митотический индекс и апоптотический индекс

### Выводы:

1. При токсическом гепатите повышается уровень АЛТ, АСТ и ЩФ, что говорит о развитии синдромов цитолиза и холестаза. Введение ММСК+ГСК снижает активность этих ферментов.

2. Токсический гепатит нарушает белково-синтетическую функцию печени, что приводит к снижению общего белка и альбумина в сыворотке крови. Введение ММСК+ГСК сопровождается восстановлением данной функции.

3. В состоянии токсического гепатита происходит цитолиз гепатоцитов, что обуславливает снижение их количества. Введение ММСК+ГСК приводит к увеличению митотического индекса, что говорит об активации клеточной

регенерации. Также происходит увеличение количества двуядерных гепатоцитов и увеличение размера ядер, что указывает на активацию внутриклеточной регенерации.

4. При токсическом гепатите преобладает процесс апоптоза в гепатоцитах. При введении ММСК+ГСК апоптотический индекс снижается.

### **Список литературы:**

1. Исаева Н.М., Савин Е.И., Субботина Т.И., Яшин А.А. Информационное состояние биохимических и иммунологических показателей крови при патологии печени // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2013. - №11-1. – С. 63-64.

2. Макеев, О.Г. Принципы генно-клеточной терапии социально значимых заболеваний / О.Г. Макеев, А.В. Коротков, С.В. Костюкова, О.А. Сатонкина, Е.А. Шуман, В.А. Буханцев, М.С. Васильева, А.Е. Зверева, М.Ю. Герасимов, Ю.А. Симанова, Л.А. Власова, А.И. Пономарев, А.И. Улыбин, П.С. Зубанов // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2013. - № 1 (43). – С.96-99. 58.

3. Мещанинов, В.Н. Использование клеточно-ориентированных метаболитов для коррекции биовозраста / В.Н. Мещанинов, И.В. Гаврилов, Е.Л. Ткаченко, С.В. Жарков, А.М. Попов, Т.Ю. Вержбицкая, Ю.Е. Катырева, В.В. Минин, К.В. Егорин // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2013. - № 4 (46). – С.94-97.

4. Ямалов Р.А., Гарипова З.А., Ахлямова А.А., Мударисова З.Т., Хисамутдинова Р.И. Аутологичная трансплантация клеточных культур костного мозга при циррозе печени и хроническом гепатите // Медицинский вестник Башкортостана, 2013. - Том 8, - №1. – С. 72-76.

5. Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю. Стволовые клетки, их свойства, источники получения и роль в регенеративной медицине. – Екатеринбург 2016. – С.282.

УДК 616-092.19

## **Рябов Р.В., Мануилов М.К., Гребнев Д.Ю. ШАПЕРОН-ОПОСРЕДОВАННАЯ АУТОФАГИЯ И ЕЕ РОЛЬ В СТАРЕНИИ**

Кафедра патологической физиологии  
Уральский государственный медицинский университет  
Екатеринбург, Российская Федерация

## **Ryabov R.V., Manuilov M.K., Grebnev D.Yu. CHAPERONE-MEDIATED AUTOPHAGY AND ITS ROLE IN AGING**

Department of pathological physiology  
Ural state medical university  
Yekaterinburg, Russian Federation