

С.В. Готье<sup>1,2</sup>, М.Ю. Шагидулин<sup>1,2</sup>, Н.А. Онищенко<sup>1,2</sup>, М.Е. Крашенинников<sup>1</sup>, И.М. Ильинский<sup>1,2</sup>,  
Н.П. Можейко<sup>1</sup>, А.В. Люндуп<sup>2</sup>, Е.А. Волкова<sup>1</sup>, К.И. Петраков<sup>1</sup>, П.В. Аврамов<sup>1</sup>, Н.В. Перова<sup>1</sup>,  
В.И. Севастьянов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

## Коррекция хронической печеночной недостаточности при трансплантации клеток печени в виде суспензии и клеточно-инженерных конструкций (экспериментальное исследование)

44

На экспериментальной модели хронического фиброзирующего повреждения печени (крысы-самцы породы Вистар ( $n=60$ ), затравка  $CCl_4$ , длительность эксперимента 90 суток) изучена эффективность клеточной терапии при коррекции хронической печеночной недостаточности. Выполнено 3 группы опытов: I группа ( $n=10$ ) — контрольная (введение физиологического раствора); II группа ( $n=20$ ) — введение в печень суспензии клеток донорской печени в дозе  $8-10 \times 10^6$  клеток; III группа ( $n=30$ ) — введение в печень ассоциатов клеток донорской печени и донорских мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в соотношении 5:1 и в суммарной дозе  $8-10 \times 10^6$  клеток на микрочастицах инъекционного гетерогенного биополимерного гидрогеля СфероГЕЛЬ (клеточно-инженерные конструкции). Установлено, что клеточная терапия во II и III группах опытов способствовала достоверно ускоренной нормализации нарушенных функций печени: к 30-м суткам вместо 90-х суток в контроле (I группа). При этом достоверные различия в темпе нормализации функциональных показателей печени во II и III группах отсутствовали. Однако гистологический анализ показал, что через 90 суток темп дефиброзирования ткани печени в III группе был существенно более выражен, чем во II группе. Полученный эффект можно объяснить тем, что разработанные клеточно-инженерные конструкции обеспечивают адекватные условия для пролонгированной жизнедеятельности трансплантированных клеток.

**Ключевые слова:** печеночная недостаточность, клеточная терапия, клеточно-инженерные конструкции.

(Вестник РАМН. 2013; 4:44-51)

S.V. Gautier<sup>1,2</sup>, M.U. Shagidulin<sup>1,2</sup>, N.A. Onishchenko<sup>1,2</sup>, M.E. Krasheninnikov<sup>1</sup>, I.M. Iljinsky<sup>1,2</sup>,  
N.P. Mogeiko<sup>1</sup>, A.V. Lyundup<sup>2</sup>, E.A. Volkova<sup>1</sup>, K.V. Petrakov<sup>1</sup>, P.V. Avramov<sup>1</sup>, N.V. Perova<sup>1</sup>, V.I. Sevastjanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal V. Shumakov Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>I.M. Sechenov Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

## Correction of Chronic Liver Failure by Transplantation of Liver Cells Suspension and Cell-engineering Designs (experimental investigation)

On an experimental model of chronic fibrotic liver damage (male rats Wistar ( $n=60$ ), damage of  $CCl_4$ , the duration of the experiment 90 days) it was studied the effectiveness of cell therapy for the correction of chronic liver failure. These rats were divided into 3 experimental groups: in the I<sup>st</sup>-group (control,  $n=10$ ) isotonic saline (650 mkl.) was injected; in the II<sup>nd</sup>-group ( $n=20$ ) suspension of liver cells was applied in a dose  $8-10 \times 10^6$  cells; in the III<sup>rd</sup>-group ( $n=30$ ) suspension of liver cells and bone marrow cells (mesenchymal stromal cells) in ratio 5:1 were used as cell associates on microparticles injectable heterogeneous biopolymer hydrogel «SpheroGEL» (cell-engineering design) in common dose  $8-10 \times 10^6$  cells. It was ascertained that in the 2<sup>nd</sup>- and in the 3<sup>rd</sup>-groups the accelerated normalization of disturbed liver functional indices (ALT, AST, ALP) took place — to 30 days, but in the control group only to 90 days. The reliable differences in rats of normalization of functional indices were absent between the II<sup>nd</sup> and the III<sup>rd</sup> groups. But in 90 days by using special histological dyeing it was found out that defibrotic processes in liver tissue were more expressed in the III<sup>rd</sup> group in comparison with the II<sup>nd</sup> group. Received results were consequence of prolonged vital activity of cells (liver cells and mesenchymal stromal bone marrow cells) into cell-engineering designs, which were transplanted in the III<sup>rd</sup> group.

The obtained effect can be explained by that the developed cell-engineering designs provide adequate conditions for prolonged vital activity of the transplanted cells.

**Key words:** liver failure, cell therapy, cell-engineering designs.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2013. 4: 44-51)

## Введение

Совершенствование методов лечения острой и хронической печеночной недостаточности (ПН) остается актуальной задачей современной медицины, т.к. смертность и нетрудоспособность при заболеваниях печени занимают одно из первых мест и не имеют тенденции к снижению [1]. Существует мнение, что недостаточная эффективность традиционно применяемых методов лечения ПН (медикаментозная и афферентная терапия) обусловлена тем, что афферентные методы, имитируя детоксикационную функцию печени, тормозят регенераторный восстановительный процесс в пораженном органе, механически удаляя из организма не только токсичные вещества, но и факторы, необходимые для репаративной регенерации печени.

В последние 50 лет при глубоком необратимом повреждении печени стали осуществлять полную ее замену путем трансплантации донорского материала. Однако возрастающая во всем мире нехватка донорских органов [2] заставляет искать другие, более доступные методы лечения ПН, направленные на восстановление функций собственной печени. Такой подход оправдывается тем, что у большинства больных, даже умерших от ПН, печень зачастую не является погибшим органом, поскольку очаги некрозов в ней окружены паренхиматозными клетками с разной степенью дистрофических изменений, часть которых (до 30% гепатоцитов) вполне жизнеспособна, а потому при благоприятных условиях и адекватных регулирующих воздействиях может стать жизнедеятельной. Исключительная способность печени выполнять свои функции сниженным объемом функционирующей паренхимы, а также восстанавливать массу функционирующих гепатоцитов при их резекциях обусловила возникновение нового направления в лечении ПН, основанного на использовании высокой регенераторной способности данного органа.

К таким методам относятся клеточные технологии и прежде всего трансплантация аллогенных гепатоцитов. Этот способ, предложенный в 90-е гг. прошлого столетия, получил клиническое признание, но продолжает изучаться и совершенствоваться в направлении увеличения сроков его терапевтического эффекта.

Непродолжительные сроки (2–3 мес) корректирующего воздействия взвеси изолированных донорских гепатоцитов после трансплантации на поврежденную печень связаны с рядом причин:

- использование аллогенного донорского материала с крайне низким содержанием активно функционирующих стволовых/прогениторных клеток печени, что не обеспечивает необходимого уровня индукции процессов восстановительной регенерации в печени больного;
- отсутствие в используемой взвеси аллогенных донорских клеток-структур, создающих условия для их прикрепления с образованием клеточных ассоциатов типа печеночных долек, способных длительно функционировать;
- отсутствие защиты аллогенных клеток от иммунного отторжения в организме реципиента.

Для повышения сроков и качества эффективного применения клеток печени при лечении ПН возникает необходимость в разработке новых клеточных технологий, которые бы поддерживали длительную и эффективную регенерацию паренхимы поврежденной печени

за счет дополнительного включения в состав используемых клеток донорской печени активно функционирующих стволовых/прогениторных клеток, способных к сокультивированию с аллогенными клетками донорской печени и образованию длительно функционирующих прикрепляющихся клеточных ассоциатов при взаимодействии с трехмерными адгезионными биосовместимыми и биодegradуруемыми носителями (матриксами).

В качестве прогениторных клеток, активно индуцирующих регенераторный процесс в печени, могли бы быть применены мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки костного мозга (ММСК КМ), которые уже используют и в эксперименте, и в клинической практике для активизации и перепрограммирования репаративных процессов в поврежденной печени, т.к. они являются неременными участниками восстановительного морфогенеза печени и оказывают свое регуляторное воздействие на систему стволовых и прогениторных клеток печени [3]. Однако данных об эффективности применения ММСК КМ при сочетанном применении с иммобилизованными клетками печени для увеличения сроков их выживания и образования клеточных ассоциатов (типа печеночных долек) в поврежденной печени мы не обнаружили.

В качестве матриксов, обеспечивающих прикрепление и длительное полноценное функционирование донорских клеток в поврежденной печени, могли бы быть взяты отечественные биополимерные материалы и прежде всего коллагенсодержащие носители [4], например СфероГЕЛЬ.

Несмотря на широкое клиническое применение, а также использование в культуральных исследованиях, СфероГЕЛЬ, однако, не рассматривали в качестве материала для изготовления имплантируемых клеточно-инженерных конструкций (биомодулей), депонирующих клетки печени.

В экспериментах на животных было описано применение интракорпоральных биомодулей «вспомогательная печень» [5], которые представляли собой биодegradуемый полимерный матрикс с адгезированными на нем гепатоцитами. Между тем выраженная местная воспалительная реакция после трансплантации предложенных биомодулей, гибель большого числа гепатоцитов и низкая плотность их прикрепления свидетельствовали об отсутствии у используемых матриксов оптимальной биосовместимости, а также об их неспособности обеспечивать адекватные условия для долгосрочного выживания клеток печени. Исследований по применению отечественных биополимеров для длительного сокультивирования клеток печени и ММСК КМ и изготовления клеточно-инженерных конструкций типа «вспомогательная печень», а также по использованию их для коррекции ПН в доступной литературе мы не обнаружили.

**Цель исследования:** произвести сравнительное изучение длительности сохранения жизнеспособности клеток донорской печени в составе клеточно-инженерной конструкции и в виде клеточной взвеси при трансплантации в печень, а также исследовать эффективность и длительность поддержания с их помощью регенераторных процессов в поврежденной печени для обоснованного выбора метода клеточной терапии, способного существенно увеличить продолжительность жизни больных с ПН, в т.ч. включенных в лист ожидания на трансплантацию печени.

## Материалы и методы

### Участники исследования

Целесообразность трансплантации в печени клеточно-инженерных конструкций или взвеси клеток печени для лечения хронической ПН была изучена в опытах на крысах-самцах линии Wistar в возрасте 6–8 мес весом 250–260 г с моделью хронического токсического фиброзирующего повреждения печени ( $n = 60$ ).

После создания модели ПН все животные были разделены на 3 группы в зависимости от способа коррекции ПН. В I группе — контрольной ( $n = 10$ ) — крысам на 7-е сут после создания модели ПН в печень вводили физиологический раствор в объеме 650 мкл. Во II группе ( $n = 20$ ) на 7-е сут после моделирования ПН крысам в поврежденную печень вводили суспензию аллогенных клеток печени, дробно, в дозе  $8-10 \times 10^6$  клеток в том же объеме физиологического раствора. В III группе ( $n = 30$ ) на 7-е сут после моделирования ПН крысам вводили аллогенные сокультивированные клетки печени и ММСК КМ в виде ассоциатов в составе биодеградируемого биосовместимого матрикса (СфероГЕЛЬ) в суммарной дозе  $8-10 \times 10^6$  клеток, дробно, в том же объеме физиологического раствора. Иммуносупрессивная терапия в описываемых опытах не проводилась.

### Методы исследования

Все манипуляции на животных осуществляли с 9 до 12 ч при комнатной температуре ( $t = 22-24$  °С), что исключало суточные колебания митотической активности клеток печени. Работа выполнялась в соответствии с требованиями, изложенными в приказе МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. и в приложении к приказу МЗ СССР № 565 от 04.10.1977 г., а также в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» от 1973 г., «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» № 1045-73 от 1973 г. и Постановлением Правительства Москвы от 1 октября 2002 г. № 819-ПП.

Моделирование хронического повреждения печени с переходом в цирроз выполняли путем курсового введения тетрахлолметана ( $CCl_4$ ) на персиковом масле по модифицированной нами схеме в течение 6 нед.

Для приготовления ассоциатов клеток печени и ММСК КМ в качестве доноров также использовали крыс-самцов линии Wistar в возрасте 3–4 мес весом 150–170 г ( $n = 40$ ). Крыс оперировали при анестезии Zoletil-100 из расчета 5 мг на 100 г веса.

Приготовление культуры ММСК КМ осуществляли по общепринятой методике [6]. Для эксперимента использовали клетки 1-го и 2-го пассажа. Общий срок культивирования клеточного материала составил 10 сут. Полученный материал представлял собой прикрепившиеся к пластику распластаные фибробластоподобные клетки (мезенхимальные стромальные клетки) и считался пригодным для трансплантации, т.к. сохранял пролиферативную активность и не содержал погибшие клетки.

Приготовление первичной культуры клеток печени осуществляли из неперфузированной печени крыс бесперфузионным методом по общепринятой методике [7, 8]. Приготовленные клетки печени использовали для коррекции ПН во II и III группе животных.

Подготовку клеток печени и ММСК КМ для использования в составе имплантируемой клеточно-инже-

нерной конструкции выполняли путем сокультивирования свежeweделенных клеток печени в ростовой среде с ММСК КМ (в соотношении 5:1) в течение 3 сут. После этого клеточный материал (клетки печени и ММСК КМ от аллогенного донора) в суммарной дозе  $8-10 \times 10^6$  клеток на 1 реципиента смешивали с гетерогенным биосовместимым биодеградируемым матриксом СфероГЕЛЬ (250 мкл) и дробно вводили в поврежденную печень.

СфероГЕЛЬ представляет собой биополимерный материал, разработанный в ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ (Москва) совместно с АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий» (Москва). СфероГЕЛЬ имеет вид зернистого желеобразного вещества и состоит из уникального комплекса компонентов внеклеточного матрикса, выделенного из тканей сельскохозяйственных животных (производитель — ЗАО «БИОМИР сервис», Москва). По аминокислотному составу СфероГЕЛЬ идентичен аминокислотному составу коллагена, но превосходит его по содержанию гексозаминов в 2 раза, а урновых кислот — более чем в 15 раз. Размер микрочастиц в геле составляет от 30 до 300 мкм, набухаемость — не менее 87%, рН = 4,8–7,2. Среднее время биорезорбции СфероГЕЛЯ в организме — от нескольких недель до 9 мес в зависимости от места имплантации и размера его микрочастиц. СфероГЕЛЬ изготавливают по оригинальной технологии (ТР и ТУ 9398-001-54969743-2006 от 26.12.2006 г.), и он разрешен к клиническому применению (рег. уд. № ФСР 2012/13033 от 01.02.2012 г.). Выпускают в инъекционной форме в шприцах по 1, 2 и 5 мл.

Оценку эффективности коррекции клинических и морфологических изменений в печени после моделирования ПН и трансплантации в печени свежeweделенных клеток печени или трансплантации клеточно-инженерных конструкций (клетки печени и ММСК КМ) проводили через 30, 60, 90 сут от начала эксперимента. В сыворотке крови животных измеряли динамику изменения активности ферментов цитолиза — аланинаминотрансферазы (АлТ), аспарагинаминотрансферазы (АсТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) — с помощью тест-полосок которые сразу же устанавливали в биохимический анализатор «Reflotron» (Roche, Швейцария).

Гистологические исследования печени (ткани печени и состояние клеточно-инженерных конструкций) выполняли путем окрашивания срезов гематоксилином и эозином, также проводили окраску по Маллори на соединительную ткань. Оценку производили при помощи световой и фазово-контрастной микроскопии клеток, а также микроскопии клеток по Номарскому, позволяющих получить псевдотрехмерное изображение.

### Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов количественного определения печеночных ферментов в сыворотке крови осуществляли методами вариационной статистики на персональном компьютере с использованием программного обеспечения «Excel for Office». Полученные результаты выражали в виде средних значений ( $M$ ) и ошибки среднего ( $m$ ). При сравнении средних значений изучаемых групп процент возможной ошибки находили по таблице  $t$ -критерия Стьюдента для парных сравнений в виде значений достоверности различия ( $p$ ), где  $p < 0,05$  считалось статистически достоверным.

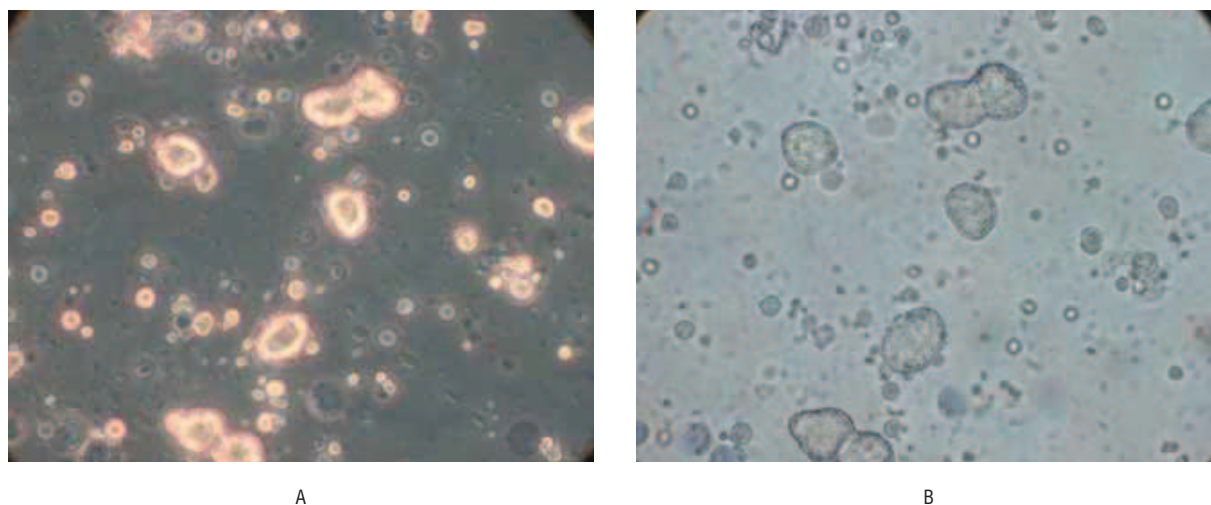


Рис. 1. Суспензия свежeweделенных клеток печени (гепатоциты и непаренхиматозные клетки). Фазово-контрастная (А) и световая микроскопия (В). Ув.  $\times 630$ .

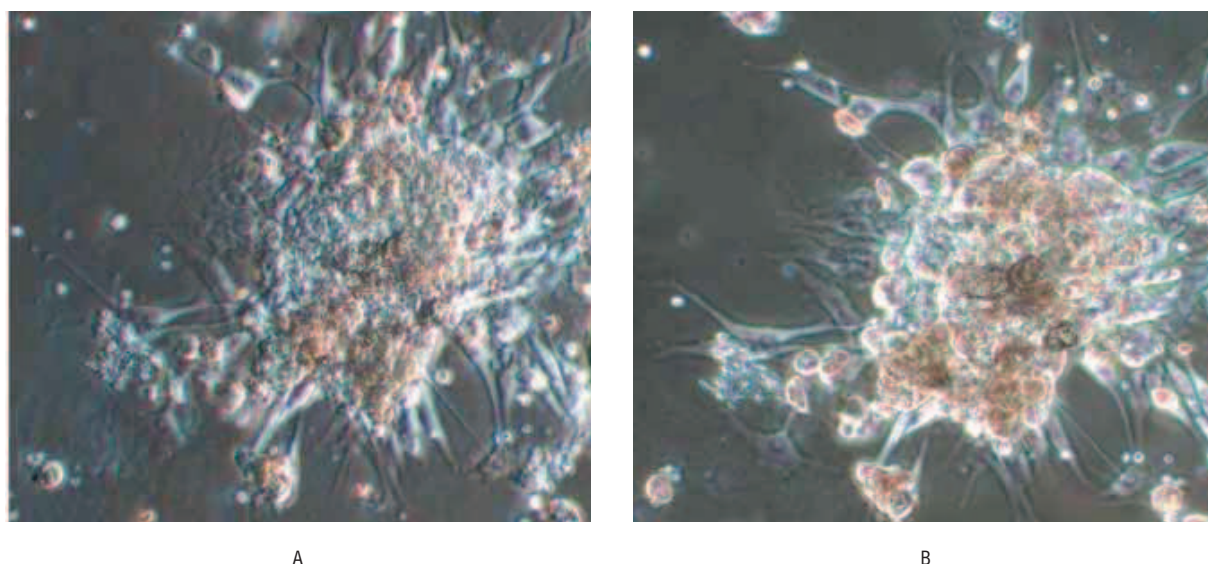


Рис. 2. Третьи сутки сокультивирования клеток печени и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга. Образование ассоциата печеночных клеток. Микроскопия по Номарскому (А) и фазово-контрастная микроскопия (В). Ув.  $\times 200$ .

### Результаты и обсуждение

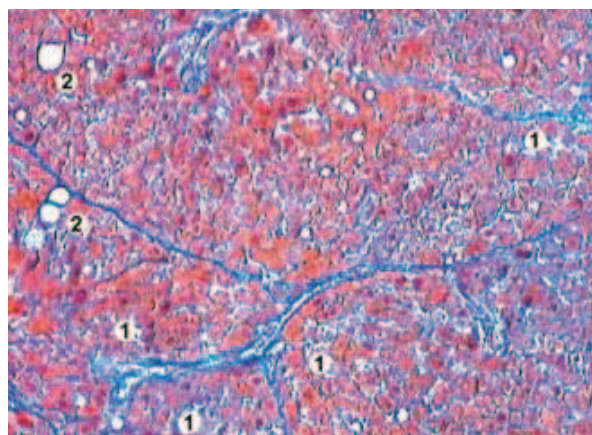
Методом световой микроскопии было установлено, что клеточная суспензия, приготовленная из донорской печени, содержала  $\sim 95\pm 98\%$  гепатоцитов и  $\sim 5\pm 2\%$  непаренхиматозных клеток (подсчет клеток производили в камере Горяева) (рис. 1, 2), причем жизнеспособность этих клеток составляла  $76\pm 4\%$  по окрашиванию трипановым синим. Разделение клеток на паренхиматозные и непаренхиматозные не производилось.

После окончания моделирования хронического токсического фиброзирующего повреждения печени в организме животных I группы (контроль) развивались клинические признаки ПН и тяжелые гистологические нарушения в печени. На 3-и сут на фоне изменения балочной структуры печеночных долек отмечали выраженный полиморфизм паренхиматозных клеток, жи-

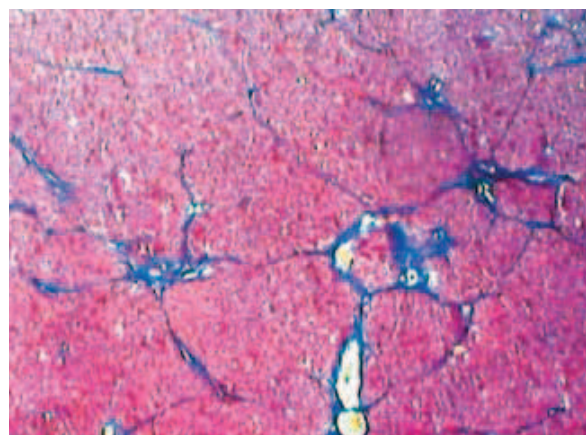
ровую дистрофию и некроз гепатоцитов. Уже на ранних сроках имела место типичная картина цирротической трансформации печени с нарушением ее архитектоники за счет разрастания соединительной ткани и формирования внутريدолькового фиброза (рис. 3). В ряде наблюдений в сроках до 1 мес отличить структуру истинных и ложных долек не представлялось возможным вследствие массивной жировой дистрофии гепатоцитов.

Фиброзные изменения в печени контрольных животных сопровождалась цитолитическими процессами в паренхиматозных клетках, что нашло отражение в нарушении биохимических показателей сыворотки крови, которые проявлялись повышением активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы (рис. 4).

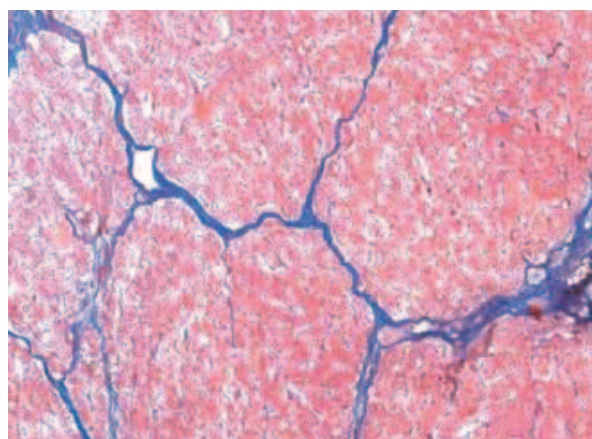
При исследовании активности АлТ, АсТ и щелочной фосфатазы было установлено резкое повышение этих показателей в течение 1–2-й нед, в особенности в течение



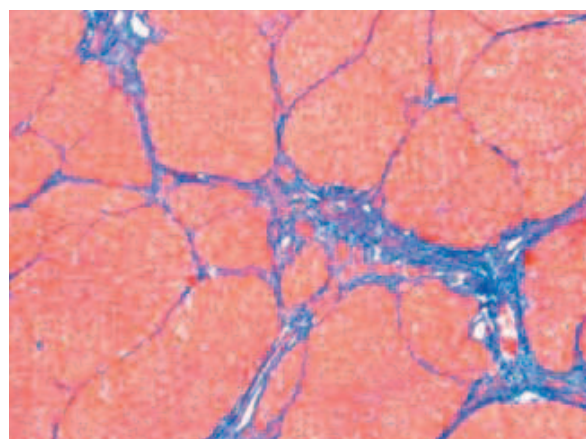
A



B



C



D

**Рис. 3.** Гистологическая картина ткани печени на разных сроках после завершения моделирования хронического токсического фиброзирующего повреждения печени (затравка крыс  $CCl_4$  в течение 42 сут). Окраска на соединительную ткань по Маллори.

*Примечание.* А — через 3 сут: 1 — ложные дольки; 2 — крупные капли жира; ув.  $\times 100$ . В — через 7 сут: 1 — соединительнотканная септа; 2 — коллагеновые волокна; 3 — двухъядерные гепатоциты; ув.  $\times 250$ . С — через 60 сут: ложные дольки; ув.  $\times 250$ . D — через 90 сут: ложные дольки; ув.  $\times 250$ .

1-й нед после затравки: активность АлТ повысилась более чем в 4,5 раза, АлГ — более чем в 3 раза, а щелочной фосфатазы — почти в 5 раз. К концу 1-го мес исследуемые показатели снижались, но оставались на достоверно ( $p < 0,05$ ) более высоком уровне по сравнению с интактными животными в течение 90 сут. В ткани печени к этому сроку уже развились явления фиброза и цирроза, которые к 60-м, а особенно к 90-м сут существенно прогрессировали.

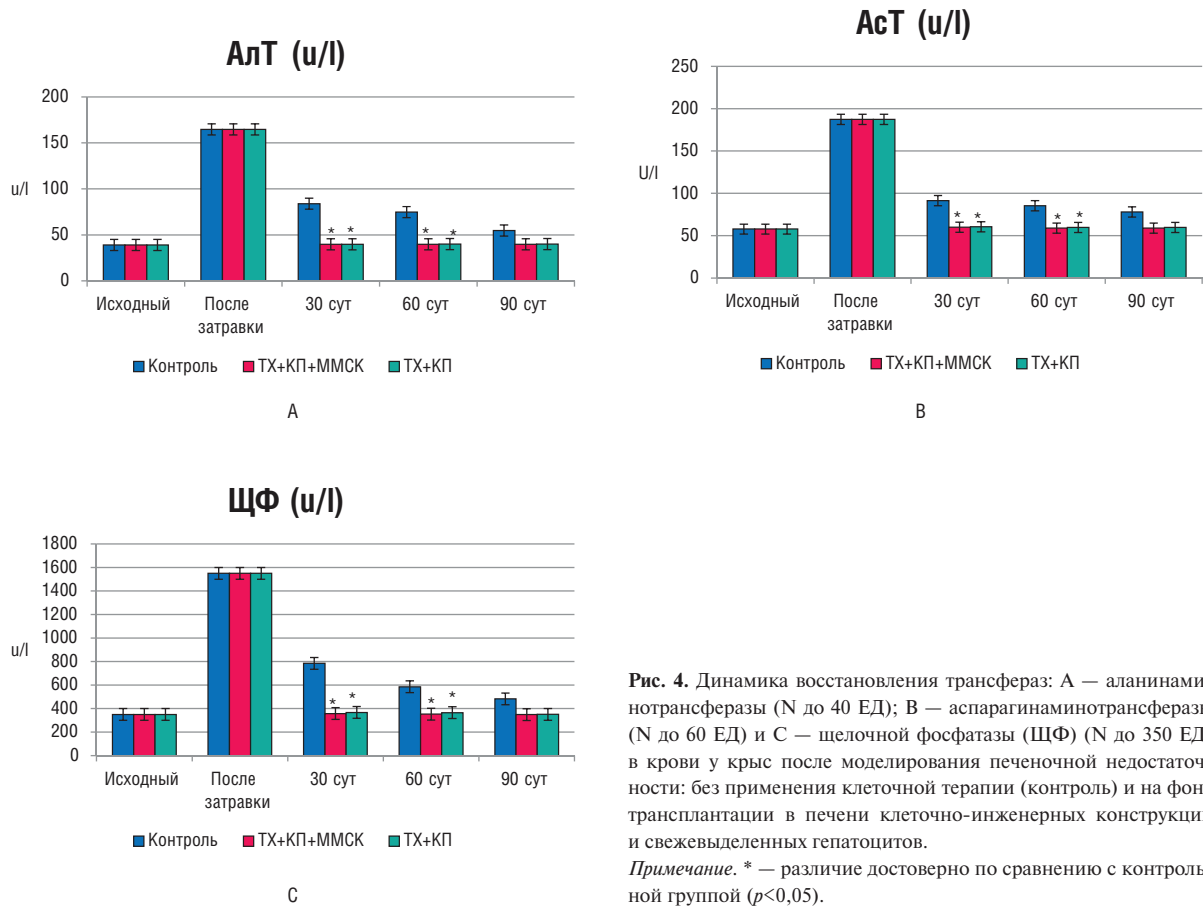
Лечение экспериментальной хронической ПН методом трансплантации клеток донорской печени (II группа) и клеточно-инженерных конструкций — ассоциатов клеток печени и ММСК КМ на матриксах СферогЕЛЬ (III группа) — также сопровождалось цитолитическими процессами в паренхиматозных клетках печени реципиента, которые проявлялись гипертрансфераземией и повышением активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови. Однако и во II, и в III группе эти показатели были достоверно ниже, чем в контрольной (см. рис. 4), и достигли нормальных значений раньше — к 30-м сут после введения клеток.

Следует также отметить, что достоверных различий в темпе нормализации активности ферментов цитолиза во II и III группе отмечено не было ( $p > 0,05$ ).

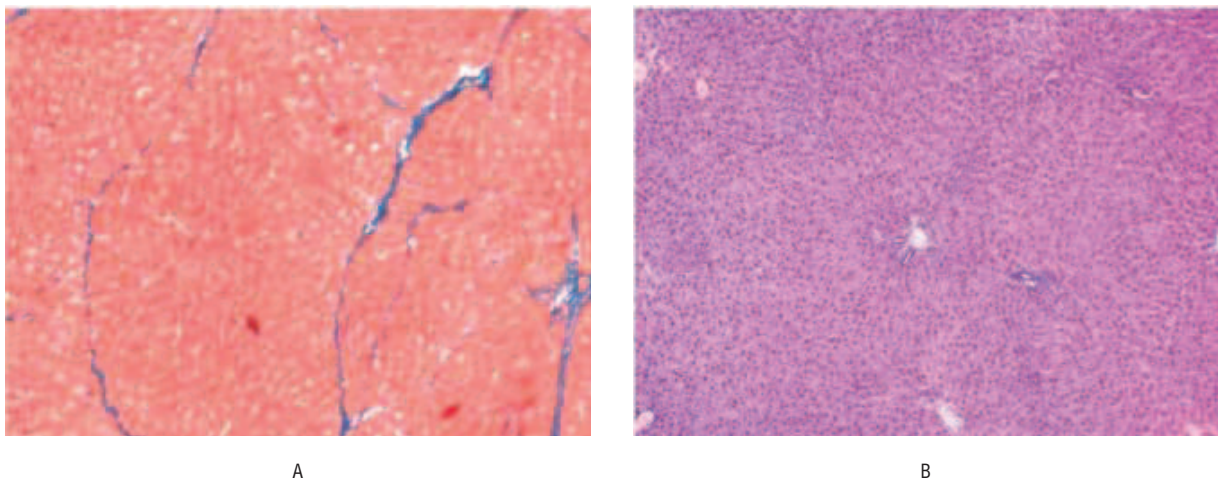
Однако во II группе темп дефибрирования ткани поврежденной печени к 90-м сут наблюдения при трансплантации клеток печени был ниже, чем в III группе, т.к. в структуре печеночной ткани встречались островки соединительной ткани, тогда как в III группе имело место полное восстановление структуры ткани печени (рис. 5).

Кроме того, в III группе на 90-е сут эксперимента в печени реципиента была отчетливо выражена пролиферативная и гликоген-аккумулирующая активность пересаженных клеток печени, которая во II группе оказалась ниже, хотя жизнеспособные клетки донорской печени по окраске на цитокератин очагово выявлялись.

Если учесть, что во II и III группе для клеточной терапии было применено одинаковое число клеток, то следует заключить, что обнаруженные различия в группах, очевидно, связаны с более низкой выживаемостью и сниженной регуляторной активностью неприкрепленных



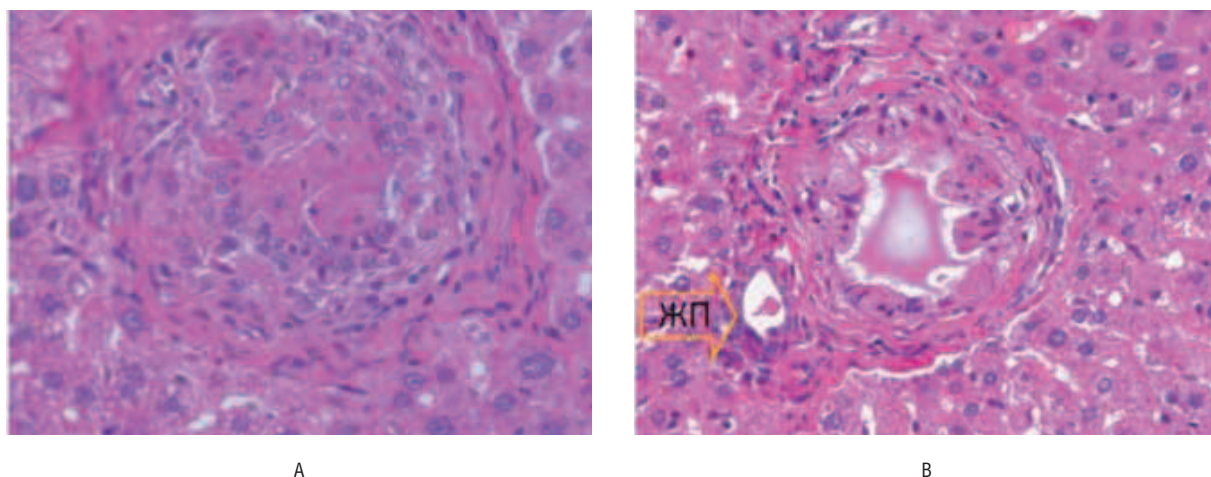
**Рис. 4.** Динамика восстановления трансфераз: А — аланинотрансферазы (N до 40 ЕД); В — аспарагинотрансферазы (N до 60 ЕД) и С — щелочной фосфатазы (ЩФ) (N до 350 ЕД) в крови у крыс после моделирования печеночной недостаточности: без применения клеточной терапии (контроль) и на фоне трансплантации в печени клеточно-инженерных конструкций и свежeweделенных гепатоцитов.  
*Примечание.* \* — различие достоверно по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 5.** Гистологическая картина ткани печени через 90 сут после моделирования печеночной недостаточности и трансплантации донорских клеток печени. Окрашивание гематоксилином и эозином.  
*Примечание.* А — после трансплантации взвеси клеток печени; ув.  $\times 200$ . В — после трансплантации клеточно-инженерных конструкций (гепатоциты+ММСК КМ в СфероГЕЛЕ); ув.  $\times 100$ .

и неинтегрированных тканью печени трансплантированных аллогенных клеток печени во II группе. В III группе аллогенные клетки донорской печени, сокультивированные с ММСК КМ и трансплантированные в виде ассоциатов в составе биоактивного матрикса СфероГЕЛЬ, не только сохраняли свою жизнеспособность и функци-

ональную активность в составе трансплантированных клеточно-инженерных конструкций: проведенное нами гистологическое исследование состояния клеточно-инженерных конструкций на 90-е сут также указало на их интеграцию в структуру печеночной ткани с образованием в ней функционирующих желчных протоков (рис. 6).



**Рис. 6.** Состояние клеточно-инженерных конструкций, содержащих ассоциаты клеток печени и ММСК КМ, через 90 сут после трансплантации в печень экспериментальных животных. Окраска гематоксилином-эозином. Ув.  $\times 400$ .

*Примечание.* А — жизнеспособные клетки донорской печени в структуре трансплантированной клеточно-инженерной конструкции. В — вновь образованные желчные протоки (ЖП) по периферии клеточно-инженерной конструкции (биомодуля).

50

Поскольку трансплантированные клетки печени и ММСК КМ были аллогенными, можно предположить, что более высокая выживаемость и функциональная активность клеток печени при трансплантации их в составе биомодуля обусловлена в т.ч. иммунотолерогенными свойствами ММСК КМ [9], которые, образуя клеточные ассоциаты, создают благоприятные условия для приживания и функционирования содержащихся в них аллогенных гепатоцитов.

Более выраженная и пролонгированная жизнеспособность клеток печени после трансплантации в составе клеточно-инженерных конструкций позволяет прийти к заключению, что использование клеточно-инженерных конструкций (биомодулей) для лечения хронической ПН является более предпочтительным, чем применение клеточной взвеси. Это объясняется тем, что для перепрограммирования хронически нарушенного процесса восстановительной регенерации в печени необходимо длительное (а точнее постоянное) поступление в тканевые регенерационные ниши поврежденной печени комплекса ростостимулирующих факторов и регуляторных тканеспецифических цитокинов, индуцирующих и поддерживающих восстановительный процесс в поврежденной печени. Пролонгированная активация восстановительных

процессов в печени у больных с ПН является надежным фактором восстановления нарушенных функций печени, что должно увеличить сроки и качество жизни больных, в т.ч. пациентов, включенных в лист ожидания на трансплантацию печени.

### Заключение

В опытах на крысах с моделью хронического фиброзирующего повреждения печени показано, что трансплантация клеток донорской печени, приготовленных как в виде суспензии, так и клеточно-инженерных конструкций, способствует ускоренной нормализации показателей функции печени по сравнению с группой контроля (опыты без применения клеток донорской печени). Однако темп дефибрирования ткани поврежденной печени реципиента при использовании одинакового числа клеток печени в суспензии и биомодулях был более выражен и ускорен в опытах с использованием биомодулей, что обусловлено созданием в этих конструкциях биологически адекватных условий для пролонгированной жизнедеятельности клеток, включенных в их структуру — клеток печени и ММСК КМ.

### REFERENCES

1. Chikoteev S.P., Plekhanov A.N. *Ocherki Khirurgii Pecheni I Podzheludochnoi Zhelezy* [Surgery Essays Of Liver And Pancreas]. Irkutsk. 2002. 259 p.
2. Got'e S.V., Moisyuk Ya.G. *Vestn. Transplantol. I iskusstv. Organov — Bulletin of Transplantology and Artificial Organs*. 2009; XI (3): pp. 8–16.
3. Onishchenko N.A., Lyundup A.V., Shagidulin M.Yu., Krashennnikov M.E. *Kletochn. Transplantol. I tkanev. Inzheneriya — Cell Transplantology and Tissue Engineering*. 2011; 2 (VI): pp.73–87.
4. Sevast'yanov V.I., Perova N.V., Nemets E.A., Surguchenko V.A., Ponomareva A.S. *Primery Eksperimental'no-Klinicheskogo Primeneniya Biosovmestimyh Materialov V Regenerativnoi Meditsine*. V kn.: *Biosovmestimye Materialy (uch. pos.)*. Chast' II. Glava 3. Pod red. V.I. Sevast'yanova i M.P. Kirpichnikova [Examples of Experimental and Clinical Application of Biocompatible Materials for Regenerative Medicine. In: Biocompatible Materials. Part II. Chapter 3.]. Pod red. V.I. Sevast'yanova i M.P. Kirpichnikova [V.I. Sevastianova, M.P. Kirpichnikova (editors)] Moscow; MIA. 2011. pp. 237–252.
5. Uyama S., Kaufman P., Kneser U., Vacanti J., Rodrigues X. Hepatocyte transplantation using biodegradable matrices in ascorbic acid-deficient rats: comparison with heterotopically transplanted liver grafts. *Transplantation*. 2001; 7: 1–7.
6. Shumakov V.I., Krashennnikov M.E., Onishchenko N.A. *Kul'tura Kletok, Soderzhashchaya Kletki-Predshestvenniki Osteogeneza, Implantant na ee Osnove i ego Ispol'zovanie Dlya Vosstanovleniya*

- Tselostnosti Kosti* [Cell Culture Comprising Osteogenic Precursor Cells, the Implant Based on it and Use it to Restore the Integrity of the Bone]. Patent № 2240135. 2004 (In Russian, unpublished)
7. Fiegel H.C., Kaufmann P.M., Kneser U., Kluth D., Rogiers X. Priming of hepatocytes for cell culture by partial hepatectomy prior to cell isolation. *Tissue Eng.* 2000; 6 (6): 619–626.
  8. Shagidulin M.Yu., Onishchenko N.A., Krashennnikov M.E., Il'inskii I.M., Mozheiko N.P., Shmerko N.P., Sevast'yanov V.I., Got'e S.V. *Vestn. transplantol. i iskusstv. organov — Bulletin of Transplantation and Artificial Organs.* 2011; 3 (8): 59–66.
  9. Charles. R., Lu L., Qian S., Fung J. Stromal cell-based immunotherapy in transplantation. *Immunotherapy.* 2011; 3: 1471–1485.

FOR CORRESPONDENCE

**Gotie Sergei Vladimirovich**, RAMS academician, PhD, Professor, Director of Federal State Budgetary Institution of Transplantation and Artificial Organs named after acad. V.I. Shumakov, Head of the Department of Transplantation and Artificial Organs Federal State Educational Institution of Higher Professional Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 196-18-03

**Shagidulin Murat Yunusovich**, PhD, Head of the Department of Experimental Transplantation and Artificial Organs, Federal State Budgetary Institution Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs named after Acad. V.I. Shumakov, Associate Professor of Transplantation and Artificial Organs Federal State Educational Institution of Higher Professional Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 196-87-90; **e-mail:** dr.shagidulin@mail.ru

**Onishenko Nina Andreevna**, PhD, Professor, Head of Stem Cells Laboratory, Federal State Budgetary Institution Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs named after Acad. V.I. Shumakov, Department of Transplantation and Artificial Organs Federal State Educational Institution of Higher Professional Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 190-45-31

**Krashennnikov Michael Yevgen'evich**, PhD, Senior Research Worker, Laboratory of Stem Cells, Federal State Budgetary Institution Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs named after Acad. V.I. Shumakov

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 190-45-31; **e-mail:** krashen@rambler.ru

**Igor Mikhailovich Il'inskij**, PhD, Professor, Head of the Department of Clinical Pathology, Federal State Budgetary Institution Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs named after Acad. V.I. Shumakov, Department of Transplantation and Artificial Organs Federal State Educational Institution of Higher Professional Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 190-64-28

**Mozhejko Natalia Pavlovna**, PhD, Physician, Pathology Department, Federal state budgetary institution Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs named after Acad. V.I. Shumakov

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 190-64-28; **e-mail:** npm\_72@mail.ru

**Lyundup Aleksei Valer'evich**, PhD, Head of the Department of Biomedical Research, Research Institute of Molecular Medicine, Federal State Educational Institution of Higher Professional Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University.

**Address:** 117997, Moscow, Trubetskaya St. 8; **tel.:** (495) 609-14-00 ext 3051; **e-mail:** gma.tulkas@gmail.com

**Volkova Elena Alekseevna**, Head of the Laboratory of Preparation and Carrying out of Experimental Studies, Federal State Budgetary Institution Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs named after Acad. V.I. Shumakov.

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 190-77-05; **e-mail:** volckowa.g2011@yandex.ru

**Petrakov Konstantin Valer'evich**, Junior Research Worker, Cardiac Surgery Department №3, Federal State Budgetary Institution Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs named after Acad. V.I. Shumakov.

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 190-64-28

**Avramov Pavel Vasil'evich**, Head of the Experimental Laboratory with Vivarium, Federal State Budgetary Institution Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs named after Acad. V.I. Shumakov.

**Address:** 123182, Moscow, Shukinskaya St. 1; **tel.:** (499) 190-64-28