



Влияние перфторорганической эмульсии на морфометрические показатели печени при системном воспалительном ответе (экспериментальное исследование)

В. Ю. ЗЕМКО¹, А. М. ДЗЯДЗЬКО², А. Е. ЩЕРБА², С. Ю. ПУШКИН³, Е. В. АРШИНЦЕВА³, В. Н. ГРУШИН¹

¹ Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

² Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, г. Минск, Республика Беларусь

³ ООО «Эмульсии медицинские», г. Серпухов, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить влияние препарата «Оксифтем»¹ на морфометрические показатели печени при системном воспалительном ответе.

Материалы и методы. Проведено экспериментальное исследование на крысах-самцах линии Вистар ($n = 26$). Крысам экспериментальной группы вводили «Оксифтем» внутривенно однократно. В течение 14 суток осуществляли ежедневное наблюдение. Крыс выводили из эксперимента на 15-е сутки в состоянии легкого эфирного наркоза. Образцы печени фиксировали в 10 % нейтральном формалине на фосфатном буфере в течение 24 часов. Гистологические препараты изучали с помощью компьютерной программы анализа изображений Measure Pixels на базе светового микроскопа Leica 2000.

Результаты. В интактной группе крыс не выявлено нарушений паренхимы печени: гепатоциты имели четкие границы, пластинчатая структура сохранена, синусоидные капилляры не расширены. При развитии системного воспалительного ответа в печени крыс контрольной группы отмечено расширение и кровенаполнение центральных вен и синусоидов, нарушение структуры печеночных пластинок, перинуклеарный отек гепатоцитов. В опытной группе крыс с применением препарата «Оксифтем» наблюдалось сохранение структуры печеночных пластинок, встречались двуядерные гепатоциты, синусоиды были не расширены. Мы предполагаем, что пролиферация гепатоцитов и увеличение количества двуядерных печеночных клеток свидетельствовали о регенераторном ответе на системное воспалительное повреждение и метаболический запрос.

Закключение. Применение препарата «Оксифтем» в условиях экспериментального системного воспалительного ответа повышает репаративную регенерацию и адаптацию печени.

Ключевые слова: крысы, печень, системный воспалительный ответ, перфторорганическая эмульсия

Для цитирования: Земко В. Ю., Дзядзько А. М., Щерба А. Е., Пушкин С. Ю., Аршинцева Е. В., Грушин В. Н. Влияние перфторорганической эмульсии на морфометрические показатели печени при системном воспалительном ответе (экспериментальное исследование) // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2023. – Т. 20, № 6. – С. 43–51. DOI: 10.24884/2078-5658-2022-20-6-43-51.

Influence of perfluoroorganic emulsion on morphometric parameters of the liver in a systemic inflammatory response (experimental study)

V. Yu. ZIAMKO¹, A. M. DZYADZKO², A. E. SHCHERBA², S. Yu. PUSHKIN³, E. V. ARSHINTSEVA³, V. N. GRUSHIN¹

¹ Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus,

² Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus,

³ Medical Emulsions, Serpukhov, Russia

ABSTRACT

The objective was to study the effect of drug «Oxyphtem»¹ on liver morphometric parameters in a systemic inflammatory response.

Materials and methods. The experimental study was carried out on male Wistar rats ($n = 26$). The rats of the experimental group were injected with drug «Oxyphtem» intravenously once. Daily observation was carried out during 14 days. Rats were taken out of the experiment on the 15th day under light ether anesthesia. Liver samples were fixed in 10 % neutral formalin in phosphate buffer for 24 hours. Histological preparations were studied using the Measure Pixels image analysis computer program based on a Leica 2000 light microscope.

Results. In the intact group of rats, no violations of the liver parenchyma were detected: hepatocytes had clear boundaries, the lamellar structure was preserved and sinusoidal capillaries were not dilated. With the development of the systemic inflammatory response in the liver of rats of the control group, expansion and blood filling of the central veins and sinusoids, violation of the structure of the liver plates, and perinuclear edema of hepatocytes were noted. In the experimental group of rats with the use of drug «Oxyphtem», the preservation of the structure of the liver plates was observed, binuclear hepatocytes were found, and the sinusoids were not expanded. We hypothesize that hepatocyte proliferation and the increase in binuclear hepatic cells were indicative of the regenerative response to systemic inflammatory damage and metabolic demand.

Conclusion. The use of drug «Oxyphtem» under conditions of the experimental systemic inflammatory response increases reparative regeneration and adaptation of the liver.

Key words: rats, liver, systemic inflammatory response, perfluoroorganic emulsion

For citation: Ziamko V. Yu., Dzyadzko A. M., Shcherba A. E., Pushkin S. Yu., Arshintseva E. V., Grushin V. N. Influence of perfluoroorganic emulsion on morphometric parameters of the liver in a systemic inflammatory response (experimental study). *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2023, Vol. 20, № 6, P. 43–51. (In Russ.) DOI: 10.24884/2078-5658-2022-20-6-43-51.

Для корреспонденции:
Виктория Юрьевна Земко
E-mail: viktoryiazia@gmail.com

Correspondence:
Viktoryia Yu. Ziamko
E-mail: viktoryiazia@gmail.com

¹ «Оксифтем» – экспериментальный образец лекарственного средства на основе перфторметилциклогексилпиперидина и полоксамера, находящийся на стадии доклинических испытаний, производство ООО «Эмульсии медицинские», г. Серпухов, Московская область, Российская Федерация. / «Oxyphtem» is an experimental sample of a drug based on perfluoromethylcyclohexylpiperidine and poloxamer, which is at the stage of preclinical testing, produced by Medical Emulsions LLC, Serpukhov, Moscow region, Russian Federation.

Введение

Среди органов, поражаемых при септических состояниях, печень занимает особое место, являясь как мишенью, так и модулятором системного повреждения, и, участвуя в ответе на системную воспалительную реакцию, регулирует широкий спектр метаболических и защитных реакций [18]. Известно, что в таких состояниях прогрессирование печеночной недостаточности коррелирует с повышенным риском летального исхода [16].

Неспецифическая генерализованная реакция организма при системном воспалительном ответе (СВО) на инфекцию характеризуется синтезом широкого спектра биологически активных веществ: провоспалительных медиаторов (интерлейкинов IL-1, IL-6, IL-8, фактора некроза опухоли – TNF- α и др.) и их эндогенных антагонистов противовоспалительных медиаторов (IL-4, IL-10, IL-13, растворимых рецепторов к TNF). Отмечается, что характер, патогенность и продолжительность воздействия микробного фактора во многом определяет выраженность полиорганной дисфункции. При этом в развитии септической реакции и полиорганной недостаточности принципиальная роль отводится печеночной недостаточности, а именно ее модулирующей роли в ограничении амплитуды реакций системного воспаления на повреждение инфекционного или неинфекционного генеза [8].

Установлено, что основными механизмами печеночной дисфункции, вызванной тяжелой инфекцией и сепсисом, являются гипоксический гепатит, сепсис-ассоциированный холестаз и значительно реже (0,5–1%) – вторичный склерозирующий холангит [24]. Характерными изменениями в печени являются набухание звездчатых макрофагов и появление в них нейтральных мукополисахаридов (гликозаминогликанов), некрозы гепатоцитов, расширение перисинусоидного пространства (Диссе) [7], зернистая и (или) жировая дистрофия гепатоцитов, дисконфлексация печеночных пластинок (балок) [15]. Тем не менее, основные морфологические изменения органной дисфункции не имеют специфических проявлений [13], но известно, что при сепсисе имеет место сосуществование иммунной активации и иммунодепрессии системно и локально в печени [24].

Печеночные макрофаги (клетки Купфера) составляют 80% всех плазмоцитов в организме и несут основную нагрузку по поддержанию реакций неспецифического противoinфекционного иммунитета [20]. Что еще более важно, макрофаги обладают чрезвычайной пластичностью, которые могут проявлять различные состояния активации из-за изменений тканевого микроокружения. Макрофаги дифференцируются в различные фенотипы под воздействием разнообразных факторов и проявляют различные характеристики и эффекты, таким образом, выполняя различные регуляторные функции в физиологической и патологической активности

организма, что также известно как поляризирующий эффект макрофагов [28].

Иммуномодулирующая функция печеночных макрофагов связана с синтетической и митохондриальной функцией разных тканевых пулов печени и косвенным образом – с их регенераторной способностью. Ранее показано, что управляемое угнетение функции Купферовых клеток печени может приводить к ослаблению иммунных реакций и, как следствие, к уменьшению повреждения гепатоцитов. В экспериментальных работах было установлено снижение активации клеток Купфера при помощи гадолиния, блокаторов кальциевых каналов [21, 22, 25], пентоксифиллина [23] с целью повышения выживаемости трансплантированного органа. В эксперименте на крысах X. Wu et al. (2005) обнаружили, что добавление пептида P12, ингибирующего LBP, снизило эндотоксин-индуцированную активацию макрофагов и летальность при септическом шоке [29]. В исследовании G. L. Ackland et al. (2010), которые выявили снижение реакций системного воспаления при использовании полиэтиленгликоля у животных с индуцированным введением ЛПС экспериментальным септическим шоком [16], подчеркивается, что полиэтиленгликоль является инертной неиммуногенной молекулой, которая накапливается в печеночных макрофагах.

В этой связи важно установить: возможно ли использовать печеночную недостаточность, при которой разобщаются основные функции печени, в нормальных условиях протекающие взаимосвязанно, как модель для разработки методов управления реакциями СВО. Согласно представляемой гипотезе привлекательной идеей является возможность применения управляемой фармакологической блокады иммунных функций клеток Купфера для предупреждения развития неуправляемых реакций СВО. С этой точки зрения обсуждается возможность использования лекарственных средств, которые полностью поглощаются макрофагами, блокируя на время их активность, в частности поливинилпирролидона, декстранов, а также препаратов на основе перфторуглеродов. С учетом того, что перфторуглероды поглощаются и метаболизируются клетками Купфера и могут временно угнетать их функцию по индукции реакций СВО, возникает исследовательский вопрос: способна ли временная блокада функции печеночных макрофагов и вызванное этим снижение воспалительной активности способствовать регенерации гепатоцитов при их повреждении в условиях экспериментального септического шока, ведь регенерация – это энергозависимый процесс, который осуществляется при отсутствии конкурентных энергопотребляющих системных явлений.

Перфторорганическая (ПФО) эмульсия «Перфторан», состоящая из быстровыводящегося перфтордекалина и медленновыводящегося перфторметилциклогексилпиперидина (ПМЦП), широко применяется в качестве противошокового

и противошокового средства. Препарат обладает газотранспортными, реологическими, гемодинамическими, диуретическими, мембраностабилизирующими, кардиопротекторными и адсорбционными свойствами. Определенная роль в выведении ПФО соединений принадлежит клеткам печени. Другая часть поглощается системой мононуклеарных фагоцитов селезенки, печени, костного мозга, легких, лимфатических узлов. Из печени, селезенки и костного мозга ПФО соединения постепенно выводятся мигрирующими макрофагами по кровотоку в легкие [12].

При гистологическом исследовании цитоплазма макрофагов, поглощающих ПФО соединения, становится вакуолизированной. Фагоцитоз частиц перфторуглеродов приводит к образованию в клетках многочисленных «перфторосом», которые затем перемещаются в апикальную часть макрофагов. В последующем происходит выброс перфторуглеродов путем экзоцитоза. При исследовании паренхимы печени также отмечено включение ПФО соединений в цитоплазму гепатоцитов [3].

Применение «Перфторана» уменьшало частоту острой печеночной недостаточности с 17,9 до 3,0%, длительность пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии с 12,2 до 7,2 суток и сроков лечения в стационаре с 52,3 до 37,1 суток [27]. Несмотря на все положительные свойства лекарственного средства, его токсичность достигает 15% [11]. Она обусловлена не только размером частиц и гомогенностью эмульсии, но и химическими компонентами, а именно перфтордекалином.

В настоящее время стали изготавливать эмульсии нового поколения, не содержащие вышеупомянутый компонент, что позволило снизить реактогенность лекарственного средства. Однако остается открытым вопрос о его возможности модулировать амплитуду реакций СВО, так как исследований, посвященных изучению данных свойств препарата, проведено недостаточно [1].

Таким образом, учитывая способность некоторых ПФО эмульсий оказывать положительное влияние на дезинтоксикационную функцию печени, изучение изменений функционального состояния печени и исследование влияния ПФО эмульсий, содержащих только ПМЦП, на морфометрические показатели печени при СВО представляется на современном этапе актуальным.

Материалы и методы

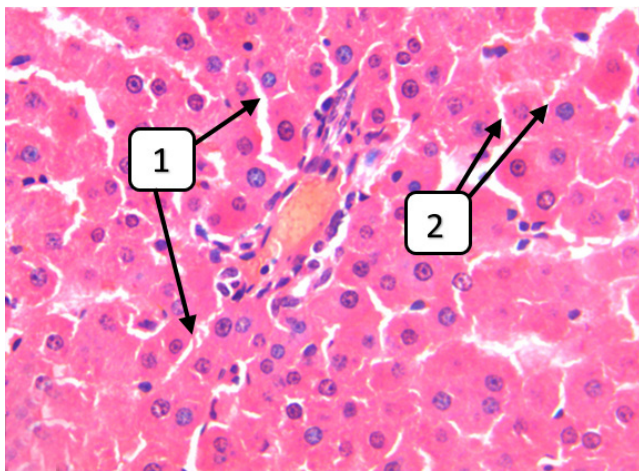
Исследование проводили на 26 крысах-самцах линии Вистар весом 240–350 граммов. Эксперимент был одобрен комиссией по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными при учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (протокол № 7 от 02.02.2023 г.). В работе применяли международные термины по цитологии и гистологии [2].

Крысы были разделены на 3 группы: интактная, контрольная, опытная. Контрольной и опытной группам крыс моделировали СВО путем внутрибрюшинного введения 0,5 мл взвеси суточной культуры *Klebsiella pneumoniae* плотностью 0,5 оптических единиц МакФарланда, что соответствовало $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл, предварительно приготовленную на бульоне Мюллера – Хинтона [14]. Опытной группе одномоментно вводили ПФО эмульсию из расчета 4 мл/кг массы тела в латеральную хвостовую вену. Контрольной группе вводили 0,9% NaCl в том же объеме, что и лекарственное средство. В качестве ПФО эмульсии использовали препарат «Оксифтем» (Эмульсии медицинские, Российская Федерация), содержащий только медленнооседающий ПМЦП, средний размер частиц 6,7 нм. В качестве интактной группы выступали крысы без проведения манипуляций над ними. Ежедневно в течение 14 дней осуществляли наблюдение за крысами. Для оценки гибели гепатоцитов применяли метод окрашивания трипановым синим. Краситель вводили внутривенно в объеме 0,5 мл за сутки до выведения крыс из эксперимента.

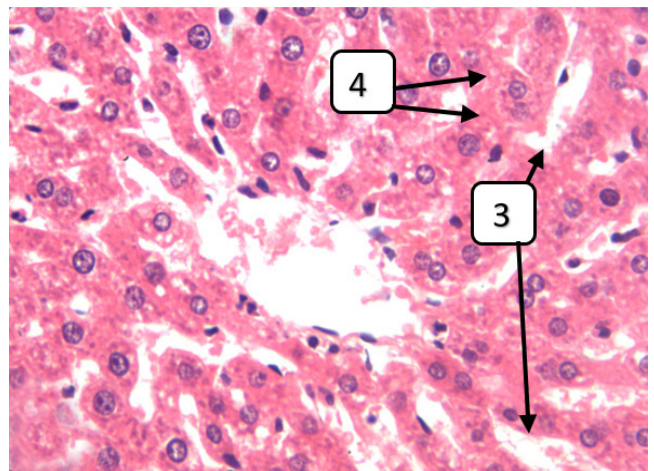
Критериями оценки моделирования СВО служили уровень прокальцитонина $> 0,5$ нг/мл, а также патоморфологические изменения паренхимы печени. Для полуколичественного определения прокальцитонина в сыворотке крови применяли метод иммунохроматографии с использованием тест-систем BRAHMS PCT (Франция).

При выведении крыс из эксперимента осуществляли забор образцов печени для гистологического исследования и крови. Печень фиксировали в 10% забуференном формалине в течение 24 часов. Затем готовили гистологические срезы по общепринятой методике с окрашиванием гематоксилин-эозином и трипановым синим-эозином. Изучение препаратов проводили с использованием микроскопа Leica 2000 при увеличении $\times 400$ с последующим микрофотографированием. Площадь (S) гепатоцитов, количество и площадь (S) ядер, диаметр (D) просвета синусоидов измеряли в компьютерной программе Measure Pixels в мкм. Оценивали количество двуядерных гепатоцитов, ядерно-цитоплазматическое отношение, сохранение пластинчатой структуры долек, четкость границ между гепатоцитами, интенсивность клеточной инфильтрации, наличие перинуклеарного отека и некрозов.

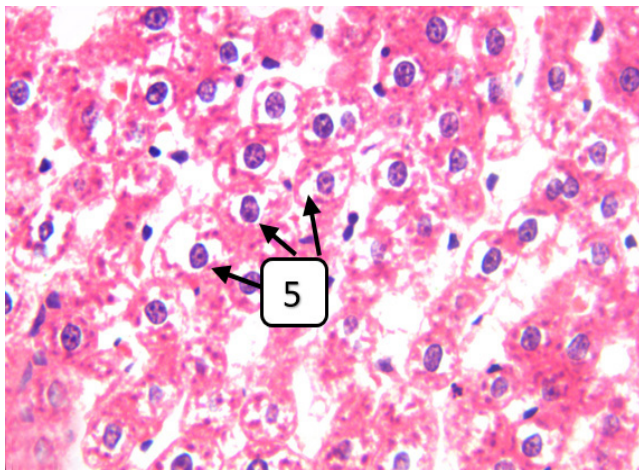
Статистическую обработку результатов проводили с помощью лицензионной программы Statistika 10. Нормальность распределения данных проверяли с применением критерия Шапиро – Уилка. Учитывая непараметрическое распределение данных, анализ несвязанных между собой выборок проводили с использованием критериев Краскелла – Уолиса и Манна – Уитни с представлением полученных результатов в виде медианы, 25-го и 75-го квартилей. Для количественного определения силы связи между 2 группами рассчитывали отношение шансов.



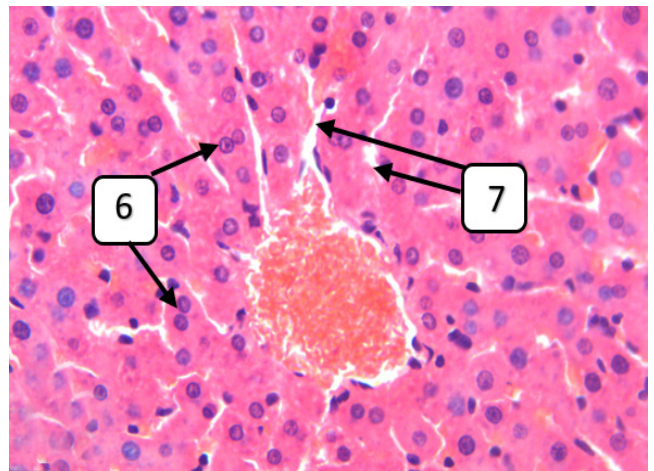
а



б



в



г

Фрагменты печени крыс интактной группы (а), контрольной группы (б, в), опытной группы (г) на 14-е сутки после наблюдения: 1 – синусоиды не расширены, 2 – четкие границы между гепатоцитами, 3 – расширение синусоидов печени, 4 – отсутствие четких границ между гепатоцитами, 5 – перинуклеарный отек гепатоцитов, 6 – двуядерные гепатоциты, 7 – синусоиды не расширены. Окраска гематоксилин-эозином, объектив $\times 40$

Fragments of the liver of the intact group (a), control group (б, в), experimental group (г) on the 14th day after observation: 1 – sinusoids are not expanded, 2 – clear boundaries among hepatocytes, 3 – expansion of the sinusoids of the liver, 4 – lack of clear boundaries among hepatocytes, 5 – perinuclear edema of hepatocytes, 6 – binuclear hepatocytes, 7 – sinusoids are not expanded. Hematoxylin and eosin stain, objective $\times 40$

Анализ качественных данных гистологического исследования печени проводили с использованием критерия Хи-квадрат Пирсона.

Результаты

Исследования показали, что в интактной группе уровень прокальцитонина составил менее 0,5 нг/мл ($p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,03$), в то время как в контрольной и опытной группах – 0,5–2 нг/мл и был сопоставим ($p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,07$).

В печени контрольной группы крыс при развитии СВО определялись нарушение пластинчатой структуры гепатоцитов, перинуклеарный отек, снижение четкости границ между гепатоцитами по сравнению с интактной группой ($p_{\text{Краскела - Уолиса}} = 0,001$). На рисунке представлены изменения паренхимы печени.

Данные морфометрических изменений печени интактной, контрольной и опытной групп представлены в табл. 1.

При использовании препарата «Оксифтем» нарушение пластинчатой структуры ($p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,0059$), нечеткость границ между гепатоцитами ($p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,001$) встречались в 1,5 и 3 раза реже в опытной группе по сравнению с контрольной.

В контрольной группе общее количество ядер составило 69 (65–74,5) и было ниже по сравнению с интактной группой (76; 72,5–85, $p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,026$). Количество двуядерных гепатоцитов было ниже в контрольной группе и составило 3; 1–5, для сравнения в интактной группе количество двуядерных печеночных клеток составило 5; 3–6,5, $p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,046$. Сравнительная морфометрическая характеристики печени групп крыс представлена в табл. 2.

Гистологическое исследование печени в опытной группе крыс позволило выявить повышение репаративной регенерации органа за счет увеличения общего количества ядер по сравнению с контрольной ($p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,0001$) и интактной группами ($p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,005$), а также двуядерных гепатоцитов ($p_{\text{Манна - Уитни}} = 0,039$) при использовании препа-

Таблица 1. Морфометрические показатели гистологического исследования печени, критерий Хи-квадрат Пирсона
Table 1. Morphometric parameters of histological examination of the liver, Pearson's chi-squared test

Показатель	Анализ частот	Корреляция, расшифровка
Нарушение пластинчатой структуры	$p_{ик} = 0,01$ $p_{ио} = 1$ $p_{ио} = 0,0059$	$R_{ик} = 0,598$ (относительно сильная) $R_{ио} = 0,519$ (относительно сильная)
Четкость границ между гепатоцитами	$p_{ик} = 0,001$ $p_{ио} = 0,001$ $p_{ио} = 0,001$	$R_{ик} = 0,577$ (относительно сильная) $R_{ио} = 0,577$ (относительно сильная) $R_{ио} = 0,6$ (сильная)
Наличие перинуклеарного отека	$p_{ио} = 0,001$	$R_{ио} = 0,408$ (относительно сильная)
Наличие клеточной инфильтрации	$p_{ик} = 0,22$ $p_{ио} = 0,56$ $p_{ио} = 0,013$	$R_{ио} = 0,39$ (средняя)

Примечание: и – интактная группа, к – контрольная группа, о – опытная группа.

Таблица 2. Морфометрические результаты печени, показатели представлены в виде Me; LQ–UQ
Table 2. Morphometric results of the liver, the data are presented as Me; LQ–UQ

Показатель	Интактная группа	Контрольная группа	Опытная группа	$p_{\text{Манна-Уитни}}$
Количество ядер	76; 72,5–85	69; 65–74,5	90; 79–110	$p_{ик} = 0,026$ $p_{ио} = 0,005$ $p_{ио} = 0,0001$
Количество двуядерных гепатоцитов	5; 3–6,5	3; 1–5	5; 2–8,5	$p_{ик} = 0,046$ $p_{ио} = 0,89$ $p_{ио} = 0,039$
S ядер, мкм ²	163,4; 138,7–181,4	177; 157,3–198,5	153,2; 117,8–168,5	$p_{ик} = 0,06$ $p_{ио} = 0,018$ $p_{ио} = 0,0001$
S гепатоцитов, мкм ²	886,0; 789,2–1078,0	1037,5; 853,6–1217,0	937,7; 754,6–1199,4	$p_{ик} = 0,137$ $p_{ио} = 0,68$ $p_{ио} = 0,27$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,173; 0,147–0,199	0,167; 0,137–0,194	0,149; 0,123–0,179	$p_{ик} = 0,51$ $p_{ио} = 0,0076$ $p_{ио} = 0,049$
D просвета синусоидов, мкм	4,93; 316–6,48	6,74; 5,3–7,49	3,7; 2,64–5,46	$p_{ик} = 0,07$ $p_{ио} = 0,08$ $p_{ио} = 0,0019$

рата «Оксифтем». Следует отметить, что общее количество ядер увеличилось в 1,3 раза по сравнению с контролем ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,0001$) и незначительно по сравнению с интактной группой ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,005$). В 1,7 раза выросло количество двуядерных гепатоцитов ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,039$), при этом ядерно-цитоплазматическое отношение снизилось незначительно за счет уменьшения площади ядер по сравнению с крысами интактной ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,0076$) и контрольной групп ($p_{\text{Манна-Уитни}} = 0,049$). Это свидетельствует о пролиферативно-регенераторном ответе гепатоцитов на интоксикацию при применении препарата «Оксифтем».

Морфологическая оценка гистологических препаратов печени, окрашенных трипановым синим-эозином, выявила отсутствие некроза в опытной и контрольной группах. Трипановый синий (витальный краситель) вводится прижизненно и связывается с разрушающимися ядрами клеток, что позволяет выявить некрозы гепатоцитов и влияние препарата на развитие печеночной недостаточности. Сохранение жизнеспособности гепатоцитов и клеток Купфера составило 100% во всех исследуемых группах. Это подтверждает отсутствие негативного воздействия препарата «Оксифтем» на функцию печени ($p_{\text{Краскела-Уолиса}} = 1,0$), но и уменьшает ценность полученных результатов

из-за слабого повреждающего эффекта модели сепсиса.

Обсуждение

В ряде работ показано, что перфторан обладает полифункциональными свойствами, такими как увеличение транспорта кислорода, улучшение центральной гемодинамики и микроциркуляции, стабилизация клеточных мембран. В последние годы обнаружено также протекторное действие ПФО соединений от окисления через воздействие на цитохром р450. В печени, будучи более подверженной процессам свободнорадикального окисления, перфторан снижает активность свободнорадикального окисления примерно на 37% [5, 6].

Печень характеризуется уникальной способностью к самообновлению, это единственный внутренний солидный орган, способный полностью восстанавливаться в ответ на альтерацию [19]. Это происходит в результате организованной пролиферации всех видов резидентов клеток и последующего восстановления функции. Более того, образование двуядерных гепатоцитов из одноядерных при репаративной регенерации представляет собой резерв полиплоидизации [26].

Установленная в настоящей работе пролиферация печеночных клеток, увеличение количества двуядерных гепатоцитов в опытной группе свидетельствует об усилении компенсаторно-приспособительных механизмов при воздействии ПФО соединениями и может рассматриваться как адаптация к повышенной функциональной нагрузке и возрастающей интоксикации. Полученные результаты согласуются с литературными данными [6].

Избыточное образование коллагеновых волокон и нарушение ангиоархитектоники печени приводит к развитию гипоксии и некрозу клеток. Ответственными за этот безудержный фиброгенез считаются клетки Ито. В свою очередь, клетки системы мононуклеарных фагоцитов печени при их активизации во время воспаления способны угнетать фиброгенную активность клеток Ито и потенцировать разрушение внеклеточного матрикса. Установлено, что присутствие в зоне фиброгенеза активных макрофагов предупреждает разрастание матрикса, блокирует процесс фиброгенеза и обеспечивает органотипическую репаративную регенерацию. В то же время при фиброзе печени тормозится воспаление *in situ* и нарастает депрессия клеток системы мононуклеарных фагоцитов, что выводит систему клеток Ито из-под их контроля [9].

Для обеспечения условий органотипической репаративной регенерации была предложена идея создания условий для постоянного пребывания активных макрофагов в зоне фиброгенеза, для чего может использоваться феномен фагоцитоза ПФО соединениями с образованием «перфторофагов» и перфторофагальных гранул в паренхиматозных органах. При проверке этой идеи установлено, что введение ПФО соединений с формированием перфторофагов в печени на модели цирроза замедляет развитие фиброза и способствует морфофункциональному восстановлению органа. Установлено, что в зоне присутствия перфторофагов повышается парциальное напряжение тканевого кислорода (pO_2), что также может объяснить феномен замедления фиброзной дегенерации органа [10].

С позиций нашего исследования особый интерес представляет обнаруженный исследователями феномен фазного влияния ПФО соединений на реактивность макрофагов. Установлено, что сразу после введения ПФО происходит временное снижение реактивности системы мононуклеарных фагоцитов, проявляющееся замедлением фагоцитоза и преходящей иммуносупрессией, связанное с «выключением» макрофагов после массивного фагоцитоза ими каплей ПФО соединений [10].

Ограничения исследования заключаются в ограниченной выборке и моделировании не сепсиса, а системной воспалительной реакции без развития полиорганной недостаточности, что подтверждается отсутствием летальных исходов у включенных в исследование групп животных, а также признаков некроза печени при анализе гистологических препаратов. Это, в свою очередь, требует проведения сравнительного анализа влияния ПФО соединений на амплитуду СВО при сепсисе и септическом шоке, при которых, вероятно, не было бы получено регенераторного ответа из-за конкуренции ССВО и регенерации за энергоресурсы. Несмотря на это, считаем, что полученные данные являются важной информацией в контексте генерации гипотез о возможности управляемого снижения амплитуды реакций СВО и ограничения неконтролируемого самоповреждения при сепсисе.

Заключение

Применение препарата «Оксифтем» для модуляции реакций СВО в условиях экспериментальной модели способствует повышению репаративной регенерации в гепатоцитах за счет увеличения количества ядер гепатоцитов, снижения ядерно-цитоплазматического отношения, возрастания количества двуядерных печеночных клеток, и, таким образом, повышает адаптацию к повышенной функциональной нагрузке на печень при СВО. Необходимы дальнейшие исследования для изучения возможности влияния лекарственного средства на ограничение реакций иммунного ответа путем временного угнетения индукции воспалительных реакций иммунокомпетентными клетками печени.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ № M23M-046 от 02.05.2023 г.

Financing. The reported study was funded by BRFFR according to the research project No M23M-046 dated 02.05.2023.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аршинцева Е. В., Пушкин С. Ю. Сравнительное изучение максимальной толерантной дозы перфторорганических эмульсий // Научный аспект. – 2022. – Т. 3, № 3. – С. 288–331.

REFERENCES

1. Arshintseva E.V., Pushkin S.Yu. Comparative study of the maximum tolerant dose of perfluoroorganic emulsions. *Scientific aspect*, 2022, vol. 3, no. 3, pp. 288–331. (In Russ.)

2. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов / под ред. В. В. Банина, В. Л. Быкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 272 с.
3. Басов Ф. В., Тарасенко В. С., Демин Д. Б. и др. Влияние перфторана на морфофункциональные изменения печени при экспериментальном остром панкреатите // Оренбургский медицинский вестник. – 2015. – Т. 3, № 3. – С. 10–11.
4. Блинкова Н. Б., Сазонов С. В., Леонтьев С. Л. Полиплоидия гепатоцитов в регенерации печени при хроническом гепатите у пациентов из разных возрастных групп. Екатеринбург: Юника, 2017. – 106 с.
5. Голубев А. М., Рагимов Р. М., Османов А. О. Применение озонированного перфторана при остром перитоните // Общая реаниматология. – 2005. – Т. 1, № 1. – С. 9–12. DOI: 10.15360/1813-9779-2005-1-9-12.
6. Далгатов Г. Д., Сабурин И. Н., Репин В. С. Применение клеточных и рентгенэндоваскулярных технологий в сочетании с регионарной перфузией перфторуглеродной эмульсии в лечении хронических диффузных заболеваний печени // Гены и клетки. – 2009. – Т. 4, № 2. – С. 76–83.
7. Дгебуадзе М. А., Ратиани Л. Р. Патоморфологические изменения печени в динамике экспериментального стафилококкового сепсиса // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 3, Ч. 4. – С. 565–569.
8. Дзядзько А. М., Щерба А. Е., Руммо О. О. и др. Парадокс: печеночная недостаточность «защищает» больного? (гипотеза) // Трансплантология. – 2017. – Т. 9, № 1. – С. 52–70.
9. Жукова А. Г., Сазонтова Т. Г., Аркадьева И. В. и др. Модулирующее действие перфторана на соотношение про- и антиоксидантных систем в разных органах // Общая реаниматология. – 2006. – Т. 1, № 3. – С. 7–50. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-1-47-50.
10. Касьянова Т. Р., Левитан Б. Н., Титаренко Ю. Б. Маркеры эндотелиальной дисфункции при хронических заболеваниях печени // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 3. – Т. 132. – С. 70–74.
11. Маевский Е. И. Возможные причины реактогенности эмульсии перфторуглеродов. Часть 1. Перфторан // Известия института инженерной физики. – 2016. – Т. 39, № 39. – С. 79–87.
12. Маевский Е. И., Головненкова А. Е., Алексеев С. В. и др. Перфторан. Неиспользованный потенциал медицины против COVID-19 // Фундаментальные исследования. Фармакология. – 2020. – № 21. – С. 854–869.
13. Митрохина Н. В. Морфологическое исследование в дифференциальной диагностике патологий печени // VetFarma. – 2018. – № 2. – С. 76–82.
14. Никифорова Л. Р., Крышень К. Л., Боровкова К. Е. и др. Обзор доклинических моделей сепсиса и септического шока // Лабораторные животные для научных исследований. – 2021. – № 4. – С. 17–28. DOI: 10.29296/2618723X-2021-04-03.
15. Рыбакова М. Г. Сепсис: от синдрома системной воспалительной реакции до органной дисфункции // Архив патологии. – 2021. – Т. 83, № 1. – С. 67–72. DOI: 10.17116/ptol20218301167.
16. Цыркунов В. М., Андреев В. П., Кравчук Р. И. и др. Клиническая цитология печени: звездчатые клетки ИТО // Журнал ГрГМУ. – 2017. Т. 4, № 56. – С. 90–99. DOI: 10.25298/2221-8785-2017-15-4-419-431.
17. Ackland G. L., Gutierrez D. A., Yao S. T. et al. Low-molecular-weight polyethylene glycol improves survival in experimental sepsis // Crit. Care Med. – 2010 – Vol. 38, № 2. – P. 629–636. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181c8fcd0.
18. Chaudhry S., Emond J., Griesemer A. Immune cell trafficking to the liver // Transplantation. – 2019. – Vol. 103, № 7. – P. 1323–1337. DOI: 10.1097/TP.0000000000002690.
19. Cienfuegos J. A., Rotellar F., Baixauli J. et al. Liver regeneration – the best kept secret. A model of tissue injury response // Rev Esp Enferm Dig. – 2014. – Vol. 106, № 3. – P. 171–194.
20. Dembic Z. The cytokines of the immune system. The role of cytokines in disease related to immune response. 1st ed. Philadelphia: Elsevier, 2015. – 320 p.
21. Hardy K. J., Tancheroen S., Shulkes A. Hepatic ischemia-reperfusion injury modification during liver surgery in rats: pretreatment with nifedipine or miso-prostol // Liver Transpl. Surg. – 1995. – Vol. 5, № 1. – P. 302–310.
22. Isozaki H., Fujii K., Nomura E. et al. Calcium concentration in hepatocytes during liver ischaemia-reperfusion injury and the effects of diltiazem and citrate on perfused rat liver // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2000. – Vol. 12, № 3. – P. 291–297.
2. International terms for human cytology and histology with an official list of Russian equivalents. Banin V.V., Bykov V.L., eds. Moscow, GEOTAR-Media, 2009, 272 p. (In Russ.)
3. Basov F.V., Tarasenko V.S., Demin D.B. et al. Perfloran effect on morphofunctional changes of liver in experimental acute pancreatitis. *Orenburg Medical Bulletin*, 2015, vol. 3, no. 3, pp. 10–11. (In Russ.)
4. Blinkova N.B., Sazonov S.V., Leontiev S.L. Hepatocyte ploidy in liver regeneration in chronic hepatitis in patients from different age groups. *Yekaterinburg, Unika*, 2017, 106 p. (In Russ.)
5. Golubev A.M., Ragimov R.M., Osmanov A.O. Use of ozonized perfloran in acute peritonitis. *General resuscitation*, 2005, vol. 1, no. 1, pp. 9–12. (In Russ.) DOI: 10.15360/1813-9779-2005-1-9-12.
6. Dalgatov G.D., Saburina I.N., Repin V.S. The use of cellular and x-ray endovascular technologies in combination with regional perfusion of perfluorocarbon emulsion in the treatment of chronic diffuse liver diseases. *Genes and Cells*, 2009, vol. 4, no. 2, pp. 76–83. (In Russ.)
7. Dgebuadze M.A., Ratiiani L.R. Pathomorphological changes in the liver in the dynamics of experimental staphylococcal sepsis. *International Journal of Applied and Basic Research*, 2016, no. 3, p. 4, pp. 565–569. (In Russ.)
8. Dzyadzko A.M., Shcherba A.E., Rummo O.O. et al. Paradox: liver failure «protects» the patient? (hypothesis). *Transplantation*, 2017, vol. 9, no. 1, pp. 52–70. (In Russ.)
9. Zhukova A.G., Sazonova T.G., Arkadyeva I.V. and others. Modulating effect of perfloran on the ratio of pro- and antioxidant systems in different organs. *General resuscitation*, 2006, vol. 1, no. 3, pp. 7–50. (In Russ.) DOI: 10.15360/1813-9779-2006-1-47-50.
10. Kasyanova T.R., Levitan B.N., Titarenko Yu.B. Markers of endothelial dysfunction in chronic liver diseases. *Kuban Scientific Medical Bulletin*, 2012, vol. 132, no. 3, pp. 70–74. (In Russ.)
11. Maevskij E.I. Possible reasons for the reactivity of perfluorocarbon emulsions. Part 1. Perfloran. *Izvestiya instituta inzhenernoj fiziki*, 2016, vol. 39, no. 39, pp. 79–87. (In Russ.)
12. Maevsky E.I., Golovnenkova A.E., Alekseev S.V. et al. Perfloran. Untapped potential of medicine against COVID-19. *Fundamental Research. Pharmacology*, 2020, no. 21, pp. 854–869. (In Russ.)
13. Mitrokhina N.V. Morphological study in the differential diagnosis of liver pathologies. *Vet Pharma*, 2018, no. 2, pp. 76–82. (In Russ.)
14. Nikiforova L.R., Kryshen' K.L., Borovkova K.E. et al. Review of preclinical models of sepsis and septic shock. *Laboratory animals for scientific research*, 2021, no. 4, pp. 17–28. DOI: 10.29296/2618723X-2021-04-03. (In Russ.)
15. Rybakova M.G. Sepsis: from systemic inflammatory response syndrome to organ dysfunction. *Archive of Pathology*, 2021, vol. 83, no. 1, pp. 67–72 (In Russ.) DOI: 10.17116/ptol20218301167.
16. Tsyrukunov V.M., Andreev V.P., Kravchuk R.I. et al. Clinical cytology of the liver: Ito stellate cells (hepatic stellate cells). *J GSMU*, 2017, vol. 4, no. 56, pp. 90–99. (In Russ.) DOI: 10.25298/2221-8785-2017-15-4-419-431.
17. Ackland G.L., Gutierrez D.A., Yao S.T. et al. Low-molecular-weight polyethylene glycol improves survival in experimental sepsis. *Crit. Care Med*, 2010, vol. 38, no. 2, pp. 629–636. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181c8fcd0.
18. Chaudhry S., Emond J., Griesemer A. Immune cell trafficking to the liver. *Transplantation*, 2019, vol. 103, no. 7, pp. 1323–1337. DOI: 10.1097/TP.0000000000002690.
19. Cienfuegos J.A., Rotellar F., Baixauli J. et al. Liver regeneration – the best kept secret. A model of tissue injury response. *Rev Esp Enferm Dig*, 2014, vol. 106, no. 3, pp. 171–194.
20. Dembic Z. The Cytokines of the Immune System. The Role of Cytokines in Disease Related to Immune Response. 1st ed. Philadelphia: Elsevier, 2015, 320 p.
21. Hardy K.J., Tancheroen S., Shulkes A. Hepatic ischemia-reperfusion injury modification during liver surgery in rats: pretreatment with nifedipine or miso-prostol. *Liver Transpl. Surg*, 1995, vol. 5, no. 1, pp. 302–310.
22. Isozaki H., Fujii K., Nomura E. et al. Calcium concentration in hepatocytes during liver ischaemia-reperfusion injury and the effects of diltiazem and citrate on perfused rat liver. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*, 2000, vol. 12, no. 3, pp. 291–297.

23. Strieter R. M., Remick D. G., Ward P. A. et al. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor-alpha production by pentoxifylline // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1988. – Vol. 155, № 3. – P. 1230–1236.
24. Strnad P, Tacke F, Koch A. Liver – guardian, modifier and target of sepsis // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2017. – Vol. 14, № 1. – P. 55–66. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.168.
25. Uchida M., Takemoto Y., Nagasue N. et al. Effect of verapamil on hepatic reperfusion injury after prolonged ischemia in pigs // *J. Hepatol.* – 1994. – Vol. 21, № 2. – P. 217223.
26. Liver Regeneration: Basic mechanisms, relevant models and clinical applications. Udayan M. A., eds. London: Academic Press, 2015. – 326 p.
27. Voelker M. T., Laudi S., Henkelmann J. et al. Extracorporeal membrane oxygenation and perfluorocarbon in a therapy refractory case of acute respiratory distress syndrome // *Ann Thorac Surg.* – 2022. – Vol. 113, № 5. – P. e355–e358. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2021.07.045.
28. Wang C., Ma C., Gong L. et al. Macrophage polarization and its role in liver disease // *Front. Immunol.* – 2021. – № 12. – P. 803037. DOI: 10.3389/fimmu.2021.803037.
29. Wu X., Qian G., Zhao Y., et al. LBP inhibitory peptide reduces endotoxin-induced macrophage activation and mortality // *Inflamm. Res.* – 2005. – Vol. 54, № 11. – P. 451–457. DOI: 10.1007/s00011-005-1378-1.
23. Strieter R.M., Remick D.G., Ward P.A. et al. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor-alpha production by pentoxifylline. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, vol. 155, no. 3, pp. 1230–1236.
24. Strnad P, Tacke F, Koch A. Liver – guardian, modifier and target of sepsis. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2017, vol. 14, no. 1, pp. 55–66. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.168.
25. Uchida M., Takemoto Y., Nagasue N. et al. Effect of verapamil on hepatic reperfusion injury after prolonged ischemia in pigs. *J. Hepatol.*, 1994, vol. 21, no. 2, pp. 217223.
26. Liver Regeneration: Basic mechanisms, relevant models and clinical applications. Udayan M. A., eds. London, Academic Press, 2015, 326 p.
27. Voelker M.T., Laudi S., Henkelmann J. et al. Extracorporeal membrane oxygenation and perfluorocarbon in a therapy refractory case of acute respiratory distress syndrome. *Ann Thorac Surg.*, 2022, vol. 113, no. 5, pp. e355–e358. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2021.07.045.
28. Wang C., Ma C., Gong L. et al. Macrophage polarization and its role in liver disease. *Front. Immunol.*, 2021, no. 12, pp. 803037. DOI: 10.3389/fimmu.2021.803037.
29. Wu X., Qian G., Zhao Y. et al. LBP inhibitory peptide reduces endotoxin-induced macrophage activation and mortality. *Inflamm. Res.*, 2005, vol. 54, no. 11, pp. 451–457. DOI: 10.1007/s00011-005-1378-1.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
210009, Республика Беларусь, г. Витебск, пр. Фрунзе, д. 27

ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»,
220045, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Семашко, д. 8

ООО «Эмульсии медицинские», г. Серпухов, РФ
142200, Россия, г. Серпухов, ул. Советская, д. 31/21

Земко Виктория Юрьевна

канд. мед. наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.
E-mail: viktoryiazia@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6753-2074, SPIN: 1823-6200, AuthorID: 1050869

Дзядзько Александр Михайлович

д-р мед. наук, профессор, зав. отделом анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии.
E-mail: 2726996@gmail.com, ORCID: 0000-0003-1965-1850, SPIN: 4833-3181, AuthorID: 994591

Щерба Алексей Евгеньевич

доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по хирургической работе ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».
E-mail: aleina@tut.by, ORCID: 0000-0003-0569-6150

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,
27, Frunze Ave., Vitebsk, 210009, Belarus

Minsk Scientific and Practical Center for Surgery,
Transplantology and Hematology,
8, Semashko str., Minsk, 220045, Republic of Belarus

Medical Emulsions,
31/21, Sovetskaya str., Serpukhov, 142200, Russia

Ziamko Viktoryia Yu.

Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Anesthesiology and Intensive Care with the Course of the Faculty for Advanced Training and Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.
E-mail: viktoryiazia@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6753-2074, SPIN: 1823-6200, AuthorID: 1050869

Dzyadzko Alexander M.

Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology.
E-mail: 2726996@gmail.com, ORCID: 0000-0003-1965-1850, SPIN: 4833-3181, AuthorID: 994591

Shcherba Aleksey E.

Dr. of Sci. (Med.), Professor, Deputy Director for Surgical Work, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology.
E-mail: aleina@tut.by, ORCID: 0000-0003-0569-6150

Пушкин Сергей Юрьевич

руководитель ООО «Эмульсии медицинские».
E-mail: LaboratoryPushkin@yandex.ru,
ORCID: 0000-0003-0594-9760, SPIN: 1258-8987,
AuthorID: 135059

Аршинцева Елена Валентиновна

технолог ООО «Эмульсии медицинские».
E-mail: LaboratoryPushkin@yandex.ru

Грушин Владимир Николаевич

канд. мед. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии
и эмбриологии,
E-mail: grushin@tut.by, ORCID: 0000-0002-1642-2860

Pushkin Sergey Yu.

Director, Medical emulsions.
E-mail: LaboratoryPushkin@yandex.ru,
ORCID: 0000-0003-0594-9760, SPIN: 1258-8987,
AuthorID: 135059

Arshintseva Elena V.

Technologist, Medical emulsions.
E-mail: LaboratoryPushkin@yandex.ru

Grushin Vladimir N.

Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor of the Chair
of Histology, Cytology and Embryology.
E-mail: grushin@tut.by, ORCID: 0000-0002-1642-2860