

EDN: <https://elibrary.ru/dzcdod>DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2022-62-11-761-766>

УДК 615.916: 546

Трапезникова Е.Г., Шилов В.В., 2022

Трапезникова Е.Г.<sup>1,2</sup>, Шилов В.В.<sup>1,3</sup>**Использование мезенхимальных стволовых клеток для ускорения процессов регенерации при остром токсическом повреждении печени**<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, ул. Кирочная, 41, Санкт-Петербург, 191015;<sup>2</sup>ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, г.п. Кузьмолловский, корп. № 93, Ленинградская область, 188663;<sup>3</sup>ФБУН «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья» Роспотребнадзора, 2-я Советская улица, 4, Санкт-Петербург, 191036

**Введение.** Влияние комплексной химической нагрузки на населения всего мира, применение фармакологических препаратов, спиртосодержащей продукции являются основными факторами, обуславливающими высокую частоту и распространённость токсических гепатитов. Поиск новых подходов для терапии токсических поражений печени с целью восстановления структурных и функциональных нарушений является одной из актуальных задач медицины. Особый интерес представляют методы регенеративной медицины, основанные на применении различных типов стволовых клеток. **Цель исследования** — изучение влияния трансплантации мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток на процессы регенерации в печени крыс при индуцированном остром токсическом гепатите.

**Материалы и методы.** Экспериментальное исследование было проведено на 114 белых беспородных крысах-самцах (3–5 месяцев) массой тела 250–390 г. Животные были разделены на 3 группы: 1 группа ( $n=15$ ) контроль; 2 группа ( $n=41$ ) однократное внутривенное введение масляного раствора четырёххлористого углерода ( $CCl_4$ ) в дозе 1500 мг/кг; 3 группа ( $n=58$ ) однократное внутривенное введение  $CCl_4$  в дозе 1500 мг/кг и последующая внутрипеченочная трансплантация ММСК ( $2 \times 10^6$ ).

На 1-е, 3-и, 5-е, 7-е сутки эксперимента крыс выводили из эксперимента путём декапитации после лёгкого эфирного наркоза, проводили забор печени для гистологического и морфометрического исследований.

**Результаты.** По данным иммунофлуоресцентного анализа внутривенно трансплантированные ММСК обнаруживались в печени крыс на 3-и и все последующие сроки наблюдения. В настоящем исследовании трансплантация ММСК приводила к статистически значимому уменьшению инфильтративных процессов в ткани печени на 3-и и 5-е сутки исследования на 28,3% ( $p<0,0001$ ) и 18,75% ( $p=0,0074$ ) по сравнению с группой позитивного контроля. На 7 сутки трансплантация ММСК уменьшала степень жировой дистрофии органа. Уменьшение патологических проявлений токсического гепатита у крыс связано с более ранней активацией механизмов репаративной регенерации. Реализация регенерации печени на фоне трансплантации ММСК осуществлялась за счёт усиления белково-синтетических процессов в клетках печени, а также повышения митотической активности гепатоцитов.

**Заключение.** Проведённое экспериментальное исследование показало, что трансплантация ММСК является эффективным методом стимуляции регенеративных процессов в печени после её острого токсического повреждения.

**Ограничения исследования.** В данном эксперименте не была проведена оценка процессов перекисного окисления липидов в клетках печени крыс, данные критерии не вошли в исследование, и могут стать предметом дальнейшего изучения.

**Этика.** Работа с лабораторными животными проведена с одобрением биоэтического комитета СЗГМУ им. И.И. Мечникова от 11.11.2020 г., а также в соответствии с принятыми в РФ международными правилами GLP (Правила надлежащей лабораторной практики), Приказ № 267 МЗ РФ от 19 июня 2003 г.

**Ключевые слова:** морфометрическое исследование; четырёххлористый углерод; острый токсический гепатит; мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки

**Для цитирования:** Трапезникова Е.Г., Шилов В.В. Влияние мезенхимальных стволовых клеток на процессы регенерации печени крыс при остром токсическом повреждении печени. *Мед. труда и пром. экол.* 2022; 62(11): 761–766. <https://elibrary.ru/dzcdod> <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2022-62-11-761-766>

**Для корреспонденции:** Трапезникова Елена Геннадьевна, врач клинко-лабораторной диагностики, научный сотрудник ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, аспирант СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 191015, г. Санкт-Петербург. E-mail: [pishite22@mail.ru](mailto:pishite22@mail.ru)

**Участие авторов:**

Трапезникова Е.Г. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста;

Шилов В.В. — концепция и дизайн исследования, редактирование.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.**Конфликт интересов.** Конфликт интересов отсутствует.

Дата поступления: 05.12.2022 / Дата принятия к печати: 08.12.2022 / Дата публикации: 12.12.2022

Elena G. Trapeznikova<sup>1,2</sup>, Victor V. Shilov<sup>1,3</sup>**Use of mesenchymal stem cells to accelerate regeneration processes in acute toxic liver injury in an experiment**<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of the Russian Federation, 41, Kirochnaya St., St. Petersburg, 191015;<sup>2</sup>Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Kuz'molovskiy settlement, Vsevolozhsk District, Leningrad Region, 188663<sup>3</sup>North-West Public Health Research Center, 4, 2-ya Sovetskaya St., St. Petersburg, 191036

**Introduction.** The impact of a complex chemical load on the population of the whole world, the use of pharmacological preparations, alcohol-containing products are the main factors that determine the high frequency and prevalence of toxic hepatitis. The search for new approaches for the treatment of toxic liver damage in order to restore structural and functional disorders is one of the urgent tasks of medicine. Of particular interest are the methods of regenerative medicine based on the use of various types of stem cells.

**Purpose of the study** — study of the effect of transplantation of multipotent mesenchymal stem cells on the processes of regeneration in the liver of rats with induced acute toxic hepatitis.

**Materials and methods.** An experimental study was conducted on 114 outbred male rats (3–5 months old) weighing 250–390 g. The animals were divided into 3 main groups. Group 1 — control animals (n=15). Group 2 (positive control) single intragastric injection of an oil solution of carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) at a dose of 1500 mg/kg (n=41); Group 3 (n=58) intragastrically injected with CCl<sub>4</sub> at a dose of 1500 mg/kg, and intravenous transplantation of MMSC of 2×10<sup>6</sup>, was carried out.

On the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 5<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup> day of the experiment as well as the collection of organs and tissues for histological and morphometric studies was made.

**Results.** According to immunofluorescent analysis, intravenously transplanted MMSCs were found in the liver of rats at the 3<sup>rd</sup> and all subsequent periods of observation. In the present study, MMSC transplantation led to a statistically significant decrease in infiltrative processes in the liver tissue on the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> days of the study by 28.3% (p<0.0001) and 18.75% (p=0.0074) according to compared with the positive control group. On day 7, MMSC transplantation reduced the degree of fatty degeneration of the organ. The decrease in pathological manifestations of toxic hepatitis in rats is associated with an earlier activation of the mechanisms of reparative regeneration. Implementation of liver regeneration against the background of MMSC transplantation was carried out by enhancing protein-synthetic processes in liver cells, as well as increasing the mitotic activity of hepatocytes.

**Conclusions.** The conducted experimental study showed that MMSC transplantation is an effective method of stimulating regenerative processes in the liver after its acute toxic damage.

**Limitations.** In this experiment, lipid peroxidation processes in rat liver cells were not assessed, these criteria were not included in the study, and may be the subject of further study.

**Ethics.** Work with laboratory animals was carried out with the approval of the bioethical committee of the North-Western State Medical University. I.I. Mechnikov dated November 11, 2020, as well as in accordance with the international GLP rules adopted in the Russian Federation (Rules for Good Laboratory Practice), Order No. 267 of the Ministry of Health of the Russian Federation dated June 19, 2003.

**Keywords:** morphometric research; biochemical research; carbon tetrachloride; acute toxic hepatitis; multipotent mesenchymal stem cells

**For citation:** Trapeznikova E.G., Shilov V.V. Influence of mesenchymal stem cells on the processes of rat liver regeneration under acute toxic injury. *Med. truda i prom. ekol.* 2022; 62(11): 761–766. <https://elibrary.ru/dzcdod> <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2022-62-11-761-766> (in Russian)

**For correspondence:** Elena G. Trapeznikova, Doctor of Clinical and laboratory diagnostics, researcher of the Federal State Unitary Enterprise «Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology». E-mail: pishite22@mail.ru

**Information about the authors:** Shilov V.V. <https://orcid.org/0000-0003-3256-2609>  
Trapeznikova E.G. <https://orcid.org/0000-0002-9334-4042>

#### **Contribution:**

Trapeznikova E.G. — the concept and design of the study, processing of the material, writing the text;

Shilov V.V. — the concept and design of the study, editing.

**Funding.** The study had no funding.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

Received: 05.12.2022 / Accepted: 08.12.2022 / Published: 12.12.2022

**Введение.** Трудовая деятельность человека нередко сопряжена с воздействием целого ряда химических веществ, которые способны оказывать негативное влияние на функционирование гепатобилиарной системы [1]. В связи с проведением мероприятий направленных на улучшение профилактических и защитных мер на рабочих местах, переход на автоматизированные системы и др., в настоящее время на первый план выступают бытовые случаи токсических поражений печени связанные с приёмом фармакологических препаратов и спиртовой продукции [2, 3].

Доказано, что при одновременном приёме пяти лекарственных средств вероятность развития повреждения печени составляет около 4%, с увеличением количества применения фармакологических средств, процент возможных гепатотоксичных реакций существенно возрастает [4]. Неблагоприятное течение острых гепатитов, как правило, характеризуется массивной гибелью гепатоцитов и, несмотря на высокий регенеративный потенциал печени, может привести к развитию серьёзных осложнений, таких как хронизация воспалительного процесса с последующим развитием цирроза или острая печёночная недо-

статочность [5–8]. Поэтому терапия острых токсических поражений печени требует разработки новых подходов с целью предотвращения развития состояний угрожающих жизни пациентов.

В настоящее время применение методов регенеративной медицины в терапии токсических поражений органов и тканей является многообещающим направлением современной медицины. Терапия с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) при острых формах заболеваний, в том числе токсической этиологии может обеспечить более эффективные результаты по сравнению с существующими терапевтическими мероприятиями [8–10]. Успех лекарственного средства современной терапии изначально зависит от его способности достигать тканей-мишеней. ММСК обладают врождённым тропизмом к повреждённым участкам органов, который регулируется множеством факторов и механизмов, включая сигналы хемоаттрактантов [11]. ММСК могут напрямую заселять повреждённую ткань, тем самым восполняя клеточный состав органа [12–14]. Трансплантированные клетки могут оказывать благоприятное воздействие на микроокружение, в которое они встроились,

посредством паракринной секреции комбинаций цитокинов, хемокинов, факторов роста и некодирующих РНК, которые способны стимулировать процессы регенерации за счёт активации резидентных клеток-предшественников, внепеченочных стволовых клеток и другие мишени [15, 16].

Таким образом, основываясь на уже известных механизмах терапевтического действия ММСК, использование данных клеточных агентов при острых токсических гепатитах может способствовать сокращению сроков болезни, а также предотвратить развитие многочисленных осложнений [17, 18].

**Цель исследования** — изучение влияния трансплантации мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток на процессы регенерации печени крыс при её остром токсическом повреждении.

**Материалы и методы.** Культуру мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток получали из эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) мыши, которые выделяли из внутренней клеточной массы бластоцисты мыши механическим способом. Полученные ЭСК культивировали в бесфидерной системе, в чашках Петри 30 и 60 мм покрытых 0,1% желатиной при 37°C в мультигазовом инкубаторе «МСО – 18М» (Sanyo, Япония) с низким содержанием O<sub>2</sub> (не более 5%), влажностью 95%. Для культивирования применяли ростовую среду следующего состава: нокаутная среда DMEM (GIBCO, США) с добавлением 15% нокаутной сыворотки для ES (Invitrogen, США), 0,1 мМ β-меркаптоэтанол, 1% незаменимых аминокислот (NEAA), 2 мМ L-глутамин, антибиотики (пенициллин 100 ед./мл, стрептомицин 10 мг/мл), LIF 10 нг/мл.

Для дифференцировки ЭСК в мезенхимальном направлении, культуру клеток оставляли на 24 часа в культуральной среде, лишённой фактора LIF. Смену среды проводили по мере роста колоний. Через 4–6 дней после увеличения размеров колоний культуру механически выделяли и переносили на свежий фидер в соотношении 1:6.

Для изучения распределения ММСК в органах и тканях крыс непосредственно перед внутривенной трансплантацией культуру клеток окрашивали витальным флуоресцентным красителем РКН-26 (Sigma, США), который окрашивал липидный слой мембран клеток. Детекцию меченных РКН-26 клеток на криосрезах печени осуществляли при длине волны 567 нм с помощью флуоресцентного микроскопа (Nicon, Япония).

Для проведения эксперимента по изучению влияния трансплантации ММСК на процессы регенерации печени у крыс при индуцированном остром токсическом гепатите было сформировано 3 группы (n=114):

- 1 группу составляли контрольные животные (n=15);
- животным 2 группы, позитивный контроль проводили однократное внутривенное введение масляного раствора CCl<sub>4</sub> в дозе 1500 мг/кг (n=41);
- 3 группу составляли животные, которым однократно внутривенно вводили CCl<sub>4</sub> в дозе 1500 мг/кг с последующей внутривенной трансплантацией ММСК в концентрации 2×10<sup>6</sup> (n=58).

Эвтаназия животных производилась путём декапитации гильотинным методом, после лёгкого эфирного наркоза. Забор печени для проведения гистологических и морфометрических исследований проводили на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е сутки после введения CCl<sub>4</sub> и трансплантации ММСК. Образцы органов проходили стандартную гистологическую подготовку для получения срезов тол-

щиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином.

Гистологические срезы органов анализировали с помощью микроскопа «Axioskop-40» (Carl Zeiss, Германия), морфометрическое исследование проводили с использованием программного обеспечения «ВидеоТест-4» (Россия). Гистологические срезы печени крыс подвергали полуколичественному микроскопическому анализу при 200×/400×-кратном увеличении в 10–15 неперекрывающихся полях каждого среза. Проводили оценку патологических проявлений в печени: на 1 сутки — площадь (S) центростремительных некрозов, мм<sup>2</sup>; на 3 и 5 сутки — площадь инфильтратов, мм<sup>2</sup>. Процессы регенерации в печени изучали на основании следующих цитоморфометрических показателей: S ядер гепатоцитов (мкм<sup>2</sup>), S гепатоцита (мкм<sup>2</sup>), S цитоплазмы гепатоцитов (мкм<sup>2</sup>), количество ядрышек в ядре гепатоцитов (Ед. в п/зр.), количество митозов (Ед. в п/зр.).

Острый характер токсического воздействия CCl<sub>4</sub> позволял в динамике оценить влияние трансплантации ММСК на степень патологических проявлений, а также процессы регенерации в печени крыс. Сравнительная характеристика проводилась с группой контроля, а также группой позитивного контроля, что позволило выявить изменения, которые характеризовали влияние ММСК на динамику патологических процессов, а также процессы регенерации в печени.

Для статистического анализа полученных данных использовали пакет программ Microsoft office Excel 2013, Graph Prism 5.04. Для оценки характера распределения выборки использовали тест Колмогорова–Смирнова. Статистический анализ морфометрических показателей проводили методами непараметрической статистики по U-критерию Манна–Уитни. Данные представлены как средняя арифметическая величина и стандартная ошибка средней (M±SD). Статистически значимым считалось различие между группами при p≤0,05.

**Результаты и обсуждение.** Однократное внутривенное введение белым беспородным крысам CCl<sub>4</sub> в дозе 1500 мг/кг приводило к развитию острого токсического гепатита высокой гистологической активности. По данным гистологического исследования на 1-е сутки эксперимента выявлены обширные некрозы в центростремительных отделах печени, на 3-е и 5-е сутки инфильтративно-воспалительные очаги, образованные лимфогистиоцитарными клетками, на 7-е сутки основным патологическим проявлением являлась диффузная жировая дистрофия органа.

Для изучения распределения трансплантированных ММСК в организме крыс проведена оценка криосрезов органов и тканей крыс с помощью флуоресцентной микроскопии. По результатам исследования флуоресцентный сигнал на заданной длине волны от ММСК был обнаружен на криопрепаратах печени крыс на 3-е, 5-е и 7-е сутки исследования. Максимальное скопление флуоресцирующих ММСК наблюдали преимущественно в синусоидах центростремительных отделов печени крыс. Выявленные в ткани печени на 3-е и все последующие сроки исследования ММСК доказывают возможность направленной миграции клеток в места повреждения при их системном введении в организм лабораторных животных.

На 1-е сутки исследования трансплантация ММСК не приводила к статистически значимым изменениям патологических процессов в печени крыс по данным морфометрического исследования. Изменения морфометрических

показателей у животных на фоне трансплантации ММСК на 3-и и 5-е сутки выявили статистически значимое уменьшение площади воспалительных инфильтратов на 28,3% ( $p=0,0001$ ) и 18,75% ( $p=0,0074$ ) по сравнению с группой позитивного контроля (табл. 1).

Начиная с 3-х суток исследования у животных обеих экспериментальных групп, были выявлены цитоморфометрические изменения, свидетельствующие об активации клеточных и внутриклеточных механизмов регенерации печени с целью восполнения клеточного состава органа после токсического воздействия  $CCl_4$ . Трансплантация ММСК на 3-и сутки исследования приводила к статистически значимому увеличению митотической активности гепатоцитов на 38,03% ( $p=0,0102$ ), а также увеличению площади ядер гепатоцитов на 10,46% ( $p=0,0198$ ) и количества ядрышек на 17,24% ( $p=0,0018$ ) по сравнению с группой позитивного контроля. Выявленные цитоморфометрические изменения на фоне трансплантации ММСК свидетельствовали о более выраженной пролиферативной активности гепатоцитов, а также усилении функциональных (белково-синтетических) процессов в печени

у крыс по сравнению с группой позитивного контроля (табл. 2).

Выявленная на 3-и сутки исследования интенсификация регенеративных процессов в печени после инъекции ММСК совпадала с наблюдаемым уменьшением площади воспалительных инфильтратов в печени крыс, выявленным при морфометрическом исследовании.

По данным цитоморфометрии на 5-е сутки исследования у животных на фоне трансплантации ММСК наблюдалось снижение активности регенеративных процессов в печени после воздействия  $CCl_4$  по сравнению с показателями, выявленными в группе позитивного контроля. Так на фоне трансплантации ММСК уровень митотической активности в печени на 5-е сутки исследования снижался на 42,2% ( $p=0,0193$ ), среднее значение площади гепатоцитов уменьшалось на 10,9% ( $p=0,0233$ ) за счёт уменьшения, как площади цитоплазмы, так и ядерных структур. Сохранялось повышенное количество ядрышек в ядре гепатоцитов по сравнению с группой позитивного контроля, что свидетельствовало о повышенной метаболической функции клеток. Выявленные изменения свидетельствовали об уменьшении

Таблица 1 / Table 1

**Динамика морфометрических показателей патологических процессов в печени у крыс после воздействия  $CCl_4$  и трансплантации ММСК на 1-е, 3-и, 5-е сутки,  $M \pm SD$**

**Dynamics of morphometric indicators of pathological processes in the liver in rats after exposure to  $CCl_4$  and MMSC transplantation on 1, 3, 5 days,  $M \pm SD$**

Показатель	1 сутки		3 сутки		5 сутки	
	2 гр. (Позитивный контроль)	3 гр. ( $CCl_4$ +ММСК)	2 гр. (Позитивный контроль)	3 гр. ( $CCl_4$ +ММСК)	2 гр. (Позитивный контроль)	3 гр. ( $CCl_4$ +ММСК)
S. некрозов, мм <sup>2</sup>	0,125±0,02	0,119±0,02	—	—	—	—
S. инфильтратов, мм <sup>2</sup>	—	—	0,06±0,001	0,043±0,001*	0,016±0,008	0,013±0,006*

Примечание: \* — достоверность различий  $p \leq 0,05$  по сравнению с группой животных позитивного контроля.

Notes: \* — differences are statistically significant at  $p \leq 0,05$  compared to positive control (U-test Mann-Whitney).

Таблица 2 / Table 2

**Динамика цитоморфометрических показателей печени крыс на 3-и, 5-е и 7-е сутки после воздействия  $CCl_4$  и трансплантации ММСК,  $M \pm SD$**

**Dynamics of cytomorphometric parameters of rat liver on days 3, 5 and 7 after exposure to  $CCl_4$  and MMSC transplantation,  $M \pm SD$**

Показатель	1 гр. Контроль	3 сутки		5 сутки		7 сутки	
		2 гр. (Позитивный контроль)	3 гр. ( $CCl_4$ +ММСК)	2 гр. (Позитивный контроль)	3 гр. ( $CCl_4$ +ММСК)	2 гр. (Позитивный контроль)	3 гр. ( $CCl_4$ +ММСК)
S. гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	197,9±7,5	223,3±10,7	231,15±7,3*	251,09±9,36*	223,6±9,0*	269,2±6,4*	250,3±5,7**
S. цитоплазмы гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	165,35±7,07	185,3±9,2	189,0±6,4*	213,9±8,3*	192,6±8,0**	234,04±6,3*	215,2±5,4**
S ядер, мкм <sup>2</sup>	32,59±1,54	37,97±1,83*	41,94±1,53**	37,22±1,6*	31,03±1,3*	35,17±0,69*	35,16±0,68*
Кол-во ядрышек, Ед. в п/зр.	2,02±0,06	3,10±0,13*	3,64±0,11**	2,7±0,10*	3,07±0,10**	1,44±0,05*	1,59±0,07*
Количество митозов, Ед. в п/зр.	0,29±0,06	1,42±0,2*	1,96±0,2**	1,16±0,14*	0,67±0,10**	0,54 ±0,09*	0,37±0,07

Примечания: \* — различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$  по сравнению с группой контроля (U-критерий Манна-Уитни); \* — различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$  по сравнению с позитивным контролем (U-критерий Манна-Уитни).

Notes: \* — differences are statistically significant at  $p \leq 0,05$  compared to control (U-test Mann-Whitney); \* — differences are statistically significant at  $p \leq 0,05$  compared to the positive control group (U-test Mann-Whitney)

напряжённости регенеративных процессов к 5-му дню исследования у животных, которым проводили внутривенное введение суспензии ММСК. Завершение активной фазы пролиферации на фоне статистически значимого уменьшения инфильтратов в печени, возникших после воздействия  $CCl_4$  свидетельствовали о реализации регенеративной функции на фоне токсического поражения печени на более ранний срок. При этом, у животных группы позитивного контроля на 5-е сутки исследования цитоморфометрические показатели характеризующие регенеративные процессы в печени оставались повышенными, как по сравнению с контролем, так и экспериментальной группой.

Основная патологическая картина острого токсического гепатита у крыс на 7-е сутки исследования после воздействия  $CCl_4$  была представлена диффузной жировой дистрофией органа разной степени выраженности, от мелко- до крупнокапельной. Изменение цитоморфометрических показателей, таких как площадь гепатоцита и его цитоплазмы, при выявленном стеатозе печени является диагностическим признаком степени жировой дистрофии. При морфометрическом исследовании было выявлено, что трансплантация ММСК на 7-е сутки исследования приводила к уменьшению площади гепатоцитов на 7,02% ( $p=0,0295$ ) за счёт уменьшения площади цитоплазмы на 8,04% ( $p=0,0304$ ). Выявленные изменения подтверждали данные визуальной оценки гистологических препаратов печени крыс, при которой было выявлено уменьшение степени жировой дистрофии печени у животных, которым трансплантировали ММСК.

На 7-е сутки исследования трансплантация ММСК нормализовала количество митозов в ткани печени, тогда как у животных группы позитивного контроля сохранялась статистически значимое повышение активности клеток в стадии митоза по сравнению с интактными животными.

Таким образом, проведённое исследование показало, что трансплантация ММСК приводила к более быстрому восстановлению структуры повреждённой печени крыс посредством интенсификации естественных регенеративных процессов в более раннем периоде, т. е. на

3-и сутки исследования. Регенерация печени после однократного воздействия  $CCl_4$  реализовывалась за счёт повышения клеточной и внутриклеточной репарации. Именно на данный срок методами флуоресцентной микроскопии было доказано наличие трансплантированных ММСК непосредственно в ткани печени крыс. Механизмы терапевтической эффективности ММСК при остром токсическом гепатите у крыс связаны с ранним стимулированием митотической активности гепатоцитов непосредственно в местах встраивания, а также усилением белково-синтетической функции гепатоцитов, с целью реализации пролиферативного потенциала в повреждённой печени.

Таким образом, проведённое исследование свидетельствует о том, что трансплантация ММСК лабораторным животным с острым токсическим гепатитом после однократного воздействия  $CCl_4$  в дозе 1500 мг/кг способствует более ранней активации и интенсификации регенеративных процессов в печени, что приводит к уменьшению выраженности патологических и дистрофических проявлений токсического поражения печени.

Интенсификация регенеративных процессов в повреждённых органах и тканях на фоне трансплантации ММСК может привести к сокращению сроков заболевания, предотвращению возникновения хронических воспалительных процессов, а также многочисленных осложнений и летальных случаев.

#### Выводы:

1. Внутривенно трансплантированные мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки идентифицируются на 3-и и все последующие сроки исследования (5, 7 сутки) непосредственно в паренхиме печени крыс, с наибольшим скоплением клеток в наиболее повреждённых центролобулярных зонах.

2. По данным морфометрического анализа трансплантация ММСК приводила к интенсификации регенераторных процессов в ткани печени крыс после воздействия  $CCl_4$ , что проявлялось в уменьшении инфильтративных, воспалительных и дистрофических процессов в печени.

#### Список литературы

- Schwabe R.F., Luedde T. Apoptosis and necroptosis in the liver: a matter of life and death. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018; 15: 738–52.
- European Association for the Study of the Liver: EASL clinical practice guidelines: Drug-induced liver injury. *J. Hepatol*. 2019; 70(6): 1222–61.
- Hayashi P., Fontana R. Clinical features, diagnosis, and natural history of drug-induced liver injury. *Semin Liver Dis*. 2014; 34(2): 134–44.
- Моисеенко В.М. *Практические рекомендации по лекарственному лечению злокачественных опухолей (RUSSCO)*. М.: Общество онкологов-химиотерапевтов; 2016.
- Kwong S., Meyerson C., Zheng W., Kassardjian A., Stanzione N., Zhang K. et al. Acute hepatitis and acute liver failure: Pathologic diagnosis and differential diagnosis. *Semin. Diagn. Pathol*. 2019; 36(6): 404–14.
- Лукашик С.П., Карпов И.А. Острая печеночная недостаточность у взрослых. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019; 21(1): 46–55.
- Koti R., Tzerbinis H., Davidson B. Surgical Complications following liver transplant and their management. *Liver Diseases*. 2020; 741–56.
- Perugorria M.J., Olaizola P., Banales J.M. Cholangiocyte-to-hepatocyte differentiation: a context — dependent process and an opportunity for regenerative medicine. *Hepatology*. 2019; 69: 480–3.
- Xu J., Kisseleva T. Bone marrow-derived fibrocytes contribute to liver fibrosis. *Exp. Bio. Med*. 2015; 240: 691–700.
- Матвеев А.В. *Гепатопротекторы. Анализ международных исследований по препаратам группы лекарств для печени*. Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2013.
- Dittmar T., Entschladen F. Migratory properties of mesenchymal stem cells. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2013; 129: 117–36. [https://doi.org/10.1007/10\\_2012\\_144](https://doi.org/10.1007/10_2012_144)
- Escacena N., Quesada-Hernandez E., Capilla-Gonzalez V., Soria B., Hmadcha A. Bottlenecks in the efficient use of advanced therapy medicinal products based on mesenchymal stromal cells. *Stem Cells Int*. 2015; 2015: 895714. <https://doi.org/10.1155/2015/895714>
- Jones J., Estirado A., Redondo C., Pacheco-Torres J., Sirerol-Piquer M.-S. Garcia-Verdugo J. M et al. Mesenchymal stem cells improve motor functions and decrease neurodegeneration in ataxic mice. *Mol. Ther*. 2015; 23(1): 130–8.
- Xue R., Meng Q., Dong J., Li J., Yao Q., Zhu Y. et al. Clinical performance of stem cell therapy in patients with acute-on-chronic liver failure: A systematic review and meta-analysis. *J. Transl. Med*. 2018; 16(1): 126. <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1464-0>

15. Li C., Liu Y., Dong Z., Xu M., Gao M., Cong M. et al. TCDD promotes liver fibrosis through disordering systemic and hepatic iron homeostasis. *J. Hazard Mater.* 2020; 395: 122588. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122588>
16. Oses C., Olivares B., Ezquer M., Acosta C., Bosch P., Donoso M. et al. Preconditioning of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells with deferoxamine increases the production of pro-angiogenic, neuroprotective and anti-inflammatory factors: Potential application in the treatment of diabetic neuropathy. *PLoS ONE.* 2017; 12(5): e0178011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178011>
17. Rehab A.M., Heba M.S., Laila A.R. Elhanbuli H.M., Abdelhafez D.N., Said E.S. et al. Combined effect of hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells on mitigating liver fibrosis induced by bile duct ligation: Role of anti-inflammatory, antioxidant, anti-apoptotic, and anti-fibrotic biomarkers. *J Basic Med Sci.* 2021; 24(12): 1753–62
18. Zhang L. Zhou D., Li J., Yan X., Zhu J., Xiao P. et al. Effects of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells on Hypoxia and the Transforming Growth Factor beta 1 (TGFβ-1) and SMADs Pathway in a Mouse Model of Cirrhosis. *Med Sci Monit.* 2019; 25: 7182–90
19. Андреев В.П., Цыркунов В.М., Кравчук Р.И. Клиническая морфология печени: ядерный аппарат гепатоцитов. *Hepatology and Gastroenterology.* 2020; 2: 126–42.

## References

1. Schwabe R.F., Luedde T. Apoptosis and necroptosis in the liver: a matter of life and death. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018; 15: 738–52.
2. European Association for the Study of the Liver: EASL clinical practice guidelines: Drug-induced liver injury. *J. Hepatol.* 2019; 70(6): 1222–61.
3. Hayashi P., Fontana R. Clinical features, diagnosis, and natural history of drug-induced liver injury. *Semin Liver Dis.* 2014; 34(2): 134–44.
4. Moiseenko V.M. *Prakticheskie rekomendacii po lekarstvennomu lecheniju zlokachestvennyh opuholej (RUSSCO)*. М.: Obshchestvo onkologov-himioterapevtov; 2016 (in Russian).
5. Kwong S., Meyerson C., Zheng W., Kassardjian A., Stanzone N., Zhang K. et al. Acute hepatitis and acute liver failure: Pathologic diagnosis and differential diagnosis. *Semin. Diagn. Pathol.* 2019; 36(6): 404–14.
6. Lukashik S.P., Karpov I.A. Ostraja pechenochnaja nedostatochnost' u vzroslykh. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija.* 2019; 21(1): 46–55 (in Russian).
7. Koti R., Tzerbinis H., Davidson B. Surgical Complications following liver transplant and their management. *Liver Diseases.* 2020; 741–56.
8. Perugorria M.J., Olaizola P., Banales J.M. Cholangiocyte-to-hepatocyte differentiation: a context — dependent process and an opportunity for regenerative medicine. *Hepatology.* 2019; 69: 480–3.
9. Xu J., Kisseleva T. Bone marrow-derived fibrocytes contribute to liver fibrosis. *Exp. Bio. Med.* 2015; 240: 691–700.
10. Matveev A.V. *Gepatoprotektory. Analiz mezhdunarodnyh issledovanij po preparatam gruppy lekarstv dlja pecheni.* Simferopol': IT «ARIAL», 2013 (in Russian).
11. Dittmar T., Entschladen F. Migratory properties of mesenchymal stem cells. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2013; 129: 117–136. [https://doi.org/10.1007/10\\_2012\\_144](https://doi.org/10.1007/10_2012_144)
12. Escacena N., Quesada-Hernandez E., Capilla-Gonzalez V., Soria B., Hmadcha A. Bottlenecks in the efficient use of advanced therapy medicinal products based on mesenchymal stromal cells. *Stem Cells Int.* 2015; 2015: 895714. <https://doi.org/10.1155/2015/895714>
13. Jones J., Estirado A., Redondo C., Pacheco-Torres J., Sirerol-Piquer M.-S. Garcia-Verdugo J. M et al. Mesenchymal stem cells improve motor functions and decrease neurodegeneration in ataxic mice. *Mol. Ther.* 2015; 23(1): 130–8.
14. Xue R., Meng Q., Dong J., Li J., Yao Q., Zhu Y. et al. Clinical performance of stem cell therapy in patients with acute-on-chronic liver failure: A systematic review and meta-analysis. *J. Transl. Med.* 2018; 16(1): 126. <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1464-0>
15. Li C., Liu Y., Dong Z., Xu M., Gao M., Cong M. et al. TCDD promotes liver fibrosis through disordering systemic and hepatic iron homeostasis. *J. Hazard Mater.* 2020; 395: 122588. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122588>
16. Oses C., Olivares B., Ezquer M., Acosta C., Bosch P., Donoso M. et al. Preconditioning of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells with deferoxamine increases the production of pro-angiogenic, neuroprotective and anti-inflammatory factors: Potential application in the treatment of diabetic neuropathy. *PLoS ONE.* 2017; 12(5): e0178011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178011>
17. Rehab A.M., Heba M.S., Laila A.R. Elhanbuli H.M., Abdelhafez D.N., Said E.S. et al. Combined effect of hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells on mitigating liver fibrosis induced by bile duct ligation: Role of anti-inflammatory, antioxidant, anti-apoptotic, and anti-fibrotic biomarkers. *J Basic Med Sci.* 2021; 24(12): 1753–62.
18. Zhang L. Zhou D., Li J., Yan X., Zhu J., Xiao P. et al. Effects of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells on Hypoxia and the Transforming Growth Factor beta 1 (TGFβ-1) and SMADs Pathway in a Mouse Model of Cirrhosis. *Med Sci Monit.* 2019; 25: 7182–90.
19. Andreev V.P., Cyrkunov V.M., Kravchuk R.I. Klinicheskaja morfologija pecheni: jadernyj apparat gepatocitov. *Hepatology and Gastroenterology.* 2020; 2: 126–42 (in Russian).