



**САПАРБАЕВ С.С.  
БУКЕЕВА Ж. К.  
АКПОЛАТОВА Г.М.  
ТАРЖАНОВА Д.Ш.**

**ВЛИЯНИЕ МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ  
ФЕТАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ  
ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО  
ГЕПАТИТА У КРЫС**



Сапарбаев С.С., Букеева Ж. К.,  
Акполатова Г.М., Таржанова Д.Ш.

**Влияние медиаторных веществ  
фетальных клеток на течение острого  
и хронического гепатита у крыс**

Нур-Султан, 2020

УДК 616  
ББК 54.1  
В57

«Влияние медиаторных веществ фетальных клеток на течение острого и хронического гепатита у крыс», Сапарбаев С.С., Букеева Ж. К., Акполатова Г.М., Таржанова Д.Ш., — Нур-Султан: Типография «IndigoPrint», 2020. — 96 с.

ISBN 978-601-80818-7-3

В литературе предлагаются способы лечения дистрофических поражений печени крыс свежеизолированными эмбриональными гепатоцитами крыс. Имеются данные о стимуляции регенерации пораженной печени путем введения суспензии живых гепатоцитов человека в круглую связку печени. Однако использование в качестве гепатопротекторного средства неклоточных фракций фетальных тканей нами производилось впервые. Достоверные результаты, полученные в ходе опыта, внушают доверие и оптимизм.

По данным О.П. Рябчикова с соавторами (1998), а также исследованиями, проведенными в ННМЦ РК (2004) супернатант фетальных клеток содержит в себе такие пептидные факторы (цитокины), белки и гормоны, как пролактин, лютеинизирующий гормон, прогестерон, эстрадиол, тиреотропный гормон, тироксин, тестостерон, инсулин, кортизол, альфа-фетопротеин, микроглобулин и др.

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению механизмов фиброгенеза, роль цитокинов в регуляции воспалительного процесса и фиброза печени у больных с гепатитами и циррозом печени до конца не выяснена. Остается открытым вопрос о том, возможно ли оценить степень активности воспаления и фиброгенеза в печени на основании определения концентрации цитокинов с различным спектром действия в сыворотке крови, что, в конечном счете, может способствовать разработке новых подходов к лечению заболеваний печени [148].

В исследованиях А.В. Ягоды с соавторами (2006) установлена ассоциация факторов роста и гистологических изменений в печени, что может быть обусловлено участием данных пептидов в процессах воспаления и печеночного фиброгенеза [95].

Изучение особенностей цитокин-индуцируемых клеточных сигналов позволило выделить основное свойство, присущее данным медиаторам – «плейотропность». Основным смыслом этого свойства заключается в том, что один цитокин может индуцировать различные биологические ответы на различных клеточных типах, и множество цитокинов могут проявлять на одном и том же типе клеток сходные эффекты [94].

Поэтому следующим после клеточной трансплантации этапом исследования является изучение факторов роста и цитокинов, управляющих рождением новых клеток, миграцией и созреванием молодых клеток, а также факторов, тормозящих каждый из этих процессов. Если ученые научатся управлять этими процессами, то наши представления о многих заболеваниях и патологических процессах кардинально изменятся. Экспериментальное изучение биологических свойств «медиаторных веществ» фетальных клеток при различных видах острой и хронической патологии является одним из этапов в проведении таких исследований.

УДК 616  
ББК 54.1

ISBN 978-601-80818-7-3

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

## СВИДЕТЕЛЬСТВО

О ВНЕСЕНИИ СВЕДЕНИЙ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР  
ПРАВ НА ОБЪЕКТЫ, ОХРАНЯЕМЫЕ АВТОРСКИМ ПРАВОМ

№ 11497 от «3» августа 2020 года

Фамилия, имя, отчество, (если оно указано в документе, удостоверяющем личность) автора (ов):

**САПАРБАЕВ САМАТ САГАТОВИЧ, БУКЕЕВА ЖАНАР КАНАЛБАЕВНА, ТАРЖАНОВА ДИНАР  
ШАКЕНОВНА, АКПОЛАТОВА ГУЛЬНУР МОМЫНОВНА**

Вид объекта авторского права **произведение науки**

Название объекта **ВЛИЯНИЕ МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ ФЕТАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ  
ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА У КРЫС**

Дата создания объекта **24.07.2020**



Копия текста выдана по адресу <http://www.kazpatent.kz/>; сайт/информационный ресурс интеллектуальной собственности "Авторский центр" Республики Казахстан по адресу <https://copyright.kazpatent.kz>

Подлинность документа возможно проверить на сайте [kazpatent.kz](http://kazpatent.kz) в разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

Подписано ЭЦП

Куантыров Е.С.

## Содержание

Глава	Название	стр
	Нормативные ссылки	6
	Обозначения и сокращения	7
	Введение	8
	Основная часть	12
1	Обзор литературы. Способы защиты печени от воздействия экзотоксинов и стимуляции ее регенерации	12
1.1	Патогенез токсических и лекарственных поражений печени	12
1.2	Медикаментозная защита печени при остром и хроническом гепатите токсического генеза	16
1.3	Проблемы и перспективы использования клеточных и внеклеточных компонентов фетальной ткани в лечении заболеваний печени.	20
2	Материалы и методы исследований	24
2.1	Характеристика объекта исследования	24
2.2	Характеристика препаратов сравнения	25
2.3	Модель острого экспериментального гепатита	25
2.4	Модель хронического экспериментального гепатита	25
2.5	Биохимические методы исследования	26
2.6	Морфологические методы исследования	26
2.7	Статистические методы исследования	27
3	Влияние медиаторных веществ фетальных клеток на функциональное состояние гепатоцитов при остром парацетамоловом гепатите	27
3.1	Изменение биохимических показателей сыворотки крови экспериментальных крыс при остром парацетамоловом гепатите	28
3.2	Влияние эссенциале на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных крыс при остром парацетамоловом гепатите	32
3.3	Влияние медиаторных веществ фетальных клеток на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных крыс при остром парацетамоловом гепатите	36

4	Изучение влияния медиаторных веществ фетальных клеток на функциональное состояние гепатоцитов при экспериментальном хроническом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом	43
4.1	Изменения биохимических показателей сыворотки крови у крыс при экспериментальном хроническом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом	43
4.2	Влияние эссенциале на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных крыс при экспериментальном хроническом гепатите	47
4.3	Влияние медиаторных веществ фетальных клеток на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных крыс при экспериментальном хроническом гепатите	50
5	Морфологические изменения в печени при остром парацетамоловом и хроническом гепатите у экспериментальных крыс и их коррекция медиаторами фетальных клеток	55
5.1	Морфологические изменения в печени при остром парацетамоловом гепатите у экспериментальных крыс и их коррекция медиаторами фетальных клеток	55
5.2	Морфологические изменения в ткани печени крыс с экспериментальным хроническим гепатитом и их коррекция медиаторами фетальных клеток.	60
	Заключение	66
	Выводы	77
	Список использованных источников	78

## **НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 4. 180-85 СПКП. Меры массы. Номенклатура показателей.

ГОСТ 4. 365-85 СПКП. Оборудование. Номенклатура показателей.

ГОСТ 7.32-2001 Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ ТУ 25-11-1107-75 Сосуды лабораторные.

ГОСТ ТУ 92-11-1107-75 Колбы лабораторные.

ГОСТ 111-78 Стекла покровные.

ГОСТ 137.18-68 Весы торсионные. Методы и средства проверки.

ГОСТ 1770-74Е Посуда мерная лабораторная, стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки.

ГОСТ 1774-70 Пробирки центрифужные.

ГОСТ 4517-87 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов. Применение при анализе.

ГОСТ 4919.2-77 Реактивы и особо чистые вещества.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 7328-82 Е Меры массы общего назначения и оборудование.

Технические условия.

ГОСТ 14919-83 Е Электроплиты, электроплитки, жарочные электрошкафы бытовые. Общетехнические условия.

ГОСТ 19126-79 Е Инструменты медицинские, металлические.

Общетехнические условия.

ГОСТ 21400-75 Цилиндры.

ГОСТ 25336-82 Стаканы лабораторные.

## **ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

TNF- $\alpha$  – туморнекротизирующий фактор

IL-1 – интерлейкин 1

IL-2 – интерлейкин 2

IL-4 – интерлейкин 4

IL-6 – интерлейкин 6

IL-8 – интерлейкин 8

IL-10 – интерлейкин 10

IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста -1

TFR  $\beta$  – трансформирующий фактор роста

ПОЛ – перекисное окисление липидов

АОС – антиоксидантная система

КК – купферовские клетки

Ц-АМФ – циклический аденозинмонофосфат

ККФПЧ – криоконсервированные клетки фетальной печени человека

ННМЦ – национальный научно-медицинский центр

ИФ – интерферон

АЛТ – аланинаминотрансферазы

АСТ – аспаргатаминотрансферазы

ГГТП – гаммаглутаматтранспептидаза

ЩФ – щелочная трансфераза

ХГ - хронический гепатит

ЦП - цирроз печени

## **Введение**

### **Актуальность**

По данным современной медицины отмечается тенденция к увеличению числа заболеваний гепатобилиарной системы, которые продолжают оставаться одной из сложных и серьезных проблем здравоохранения. При этом использование стандартных терапевтических приемов не позволяет достичь удовлетворительных результатов, и смертность сохраняется на высоком уровне [1].

Общеизвестна центральная роль печени в метаболизме большинства веществ, попадающих в организм извне. При биотрансформации химических веществ, лекарственных препаратов образуются метаболиты высокой реактивности, которые, связываясь в больших количествах с макромолекулами гепатоцитов, обладают повреждающим действием на печень. Некоторые факторы, например, особенности микроциркуляции в печени, выведение части метаболитов лекарственных препаратов с желчью, делают печень особенно чувствительной к действию химических веществ [2].

В последние годы все большую актуальность приобретает применение в качестве новых способов лечения и профилактики заболеваний человека различные виды клеточной терапии, основная цель которых состоит в повышении биологической функции поврежденных тканей и органов. Существуют заболевания, при которых нарушается возобновление клеток из малодифференцированных резервов или эти резервы оказываются недостаточными. В этом случае на помощь приходит клеточная терапия, когда в организм вводят эмбриональные клетки нужного типа [3]. Уникальные свойства эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), их практически неограниченная способность к пролиферации и дифференцировке в любой тип соматических клеток взрослых органов позволяет использовать их в восстановлении поврежденных органов и тканей, для лечения многих заболеваний [4].

Особо важное значение приобретают исследования по применению в качестве заместительной клеточной терапии функциональной недостаточности органов, в том числе и печени, фетально-клеточной коррекции. Доказано, что фетальный клеточный материал имеет большой потенциал роста и пролиферации, выраженную активность и способность к дифференцировке. Проведение фетальной терапии предусматривает введение стволовых клеток (выделенных или культивированных) в организм больного, которые воспринимают химические сигналы, направляющие их к тем местам в организме, где возникли повреждения. При этом одним из основополагающих свойств используемых клеточных взвесей является их способность продуцировать большой набор различных факторов роста и регенерации, т.е. цитокинов и их антагонистов [5,6,7].

В настоящее время фетальная клеточная терапия получила широкое распространение в развитых странах. Пристальный интерес клинической медицины к клеточной терапии вызван исключительной сложностью трансплантации органов, трудоемкостью и сложностью получения

адекватного донорского материала, повышенным риском иммунного отторжения трансплантата и возможностью развития осложнений, связанных с необходимостью жесткого подавления функций иммунной системы [8]. В настоящее время получены положительные результаты от применения фетальных гепатоцитов при гепатитах, циррозах печени. Имеется опыт лечения больных циррозом печени посредством фетальной терапии гепатоцитами. В ходе исследования выявлено преобладание регенеративных процессов, восстановление балочной структуры и стромы печени, функциональной активности пораженного органа [9]. В работе К.П. Омаровой (2001) доказано, что фетальные гепатоциты способствуют усилению митотических процессов, формированию новой печеночной ткани [10].

В результате исследований Л.В. Ульяновой (2006) установлено, что клеточная терапия фетальными гепатоцитами при хроническом гепатите вызывает изменение метаболизма печеночных клеток, направленное на репарацию поврежденных гепатоцитов, а именно: изменяет активность ферментов, стимулирует процессы синтеза белка, уменьшает накопления продуктов ПОЛ, увеличивая антиоксидантный потенциал, увеличивает уровень нуклеотидов и нуклеиновых кислот [11].

Значительно меньше изучен вопрос об использовании в терапевтических целях биологически активных веществ и медиаторов фетальных клеток, т.е. внеклеточных фракций фетальной ткани

Известно, что при выделении изолированных культур клеток фетальных тканей в качестве сопутствующего компонента, получают надосадочную жидкость, содержащую в себе субстрат, состоящий из белково-пептидного комплекса. Обнаруженные нами в литературных источниках данные свидетельствуют о перспективности применения веществ, условно названных "медиаторными веществами" фетальных клеток в лечении диффузных поражений печени [7,24].

При этом высказываются предположения о том, что они способны усиливать регенерацию, а также повышать функциональную активность гепатоцитов.

Однако недостаточный уровень изученности механизмов их действия требует проведения фундаментальных исследований в этом направлении.

В соответствии с вышеупомянутым нами были сформулированы цели и задачи настоящего исследования.

### **Цель исследования.**

Целью исследования было изучение механизмов действия на печеночную ткань медиаторных веществ фетальных клеток при остром и хроническом гепатите у крыс.

### **В задачи исследования входило.**

- 1 Изучить действие «медиаторных веществ» фетальных клеток на биохимические и морфологические показатели у крыс при экспериментальном остром парацетамоловом гепатите.
- 2 Изучить действие «медиаторных веществ» фетальных клеток на биохимические и морфологические показатели у крыс на модели хронического токсического гепатита.
- 3 Провести сравнительный анализ гепатопротекторных свойств медиаторных веществ фетальных клеток и эссенциале.
- 4 Изучить зависимость гепатопротекторного действия медиаторов фетальных клеток от вводимой дозы

### **Научная новизна**

В работе впервые было изучено влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток человека на течение острого и хронического гепатита у крыс, обусловленных введением парацетамола и четыреххлористого углерода.

Научной новизной отличаются результаты, согласно которым "медиаторные вещества" фетальных клеток человека оказывают протекторное действие на клетки печени при остром и хроническом гепатите у крыс. Было доказано, что их применение препятствует возникновению грубых структурно-функциональных изменений со стороны печени у экспериментальных животных при моделировании острого и хронического токсического гепатита. Об этом свидетельствовала положительная динамика биохимических (АСТ, АЛТ, тимоловая проба, билирубин, холестерин, ГГТП) и морфологических изменений со стороны ткани печени (уменьшение признаков воспаления и фиброза). Причем позитивный эффект действия медиаторных веществ при остром парацетамоловом гепатите был выше, чем при хроническом токсическом гепатите.

Кроме того, при проведении сравнительного анализа было доказано, что гепатопротекторные свойства «медиаторных веществ» фетальных клеток оказались более выраженными, нежели у эссенциале.

При этом впервые установлен дозозависимый эффект гепатопротекторного действия "медиаторных веществ" фетальных клеток. При остром гепатите наибольшим гепатопротекторным эффектом обладают дозы 0,1 и 0,3 мл/кг, при хроническом гепатите - 0,3 мл/кг.

Данные результаты защищены предпатентом на изобретение (регистрационный номер 2007/)

## **Практическая значимость**

Полученные в ходе исследований данные дополняют теоретический материал о влиянии «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику изменений морфофункционального состояния печени при гепатитах.

Установленные на основе экспериментальных и лабораторных исследований гепатопротекторные свойства медиаторных веществ фетальных тканей при остром и хроническом гепатите могут служить основой для дальнейшего изучения механизмов действия данного субстрата.

Результаты исследований могут быть использованы в качестве фундаментального обоснования терапии "медиаторными веществами" фетальных клеток острого и хронического гепатита в практической деятельности. Кроме того, они представляют теоретический и практический интерес для широкого круга исследователей в области патофизиологии, гепатологии и клеточной трансплантационной терапии.

## **ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

### **1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

#### **Способы защиты печени от воздействия экзотоксинов и стимуляции ее регенерации**

##### **1.1 Патогенез токсических и лекарственных поражений печени**

Известно, что печень выполняет ведущую роль в процессах метаболизма и биотрансформации экзогенных веществ. В основе своей липофильные токсические вещества в печеночных клетках переходят в водорастворимые соединения. При этом образующиеся метаболиты и гепатотоксические дериваты являются более активными, нежели сами экзогенные вещества. Выведение печенью метаболитов определяется активностью разрушающих ферментов, печеночным клиренсом, кровотоком, степенью связывания с белками плазмы [12, 13, 14].

Существует несколько тысяч химических соединений, которые могут вызвать развитие острого и хронического гепатита. При этом острые и хронические гепатиты занимают ведущее место в структуре патологии печени и характеризуются уменьшением массы функционирующих клеток, выраженной фиброзирующей реакцией, перестройкой структуры паренхимы и сосудистой системы. В последнее время отмечается неуклонный рост числа токсических, в частности медикаментозных поражений печени [15,16,17]

Частота указанных состояний существенно увеличилась, что связано с либерализацией доступа населения к медикаментам, появлением в продаже большого количества средств, отпускаемых без рецепта, экологическими и социальными факторами. Особенностью токсического поражения печени является высокий риск дальнейшего прогрессирования заболевания, причем число таких заболеваний неуклонно возрастает [18].

По характеру токсического воздействия выделяют истинные (облигатные) гепатотоксины, вызывающие прямые реакции, и гепатотоксины с факультативными реакциями, обусловленными идиосинкразией. Облигатно гепатотоксическое действие оказывают карботетрахлорид, хлороформ, парацетамол, тетрациклины, анаболические средства, контрацептивы, рифампицин, антимаболиты, литохолевая кислота и др. В группе облигатных гепатотоксинов, исходя из механизма поражения печени выделяют 2 подгруппы: 1-я прямого и 2-я опосредованного действия. К первой группе относятся те вещества или их метаболиты, которые посредством своего физико-химического действия (например, пероксидация мембранных липидов, денатурация протеинов и др.) вызывают непосредственное поражение гепатоцитов, их органелл [17,20,21].

Гепатотоксины опосредованного действия, в основном, это антимаболиты и родственные соединения, вызывают поражение гепатоцитов путем интерференции с каким-либо процессом обмена веществ. Среди гепатотоксинов опосредованного действия выделяют

цитотоксические, холестатические и канцерогенные. Большинство истинных гепатотоксинов вызывает цитотоксическое поражение печени, очень небольшое их число приводит к холестатическим поражениям. Отдельные лекарственные средства могут вызывать острое поражение печени смешанного типа. Главными типами острого цитотоксического поражения печени являются дистрофические изменения, некроз и стеатоз, которые могут встречаться в самых разных комбинациях [2,22].

В литературе описано воздействие многих лекарственных и токсических препаратов, таких как метилдофа, противотуберкулезные средства, парацетамол, галлотан, приводящие к развитию распространенного массивного некроза. Обычно он приводит к острой печеночной недостаточности; если некротический процесс затягивается, развивается подострая дистрофия печени, а позже постнекротический цирроз [25].

При различных формах некроза печени в большинстве случаев развивается ответная воспалительная реакция различной степени – гепатит. Гепатоцеллюлярный ответ на воздействие токсинов проявляется продукцией и высвобождением протеинов острой фазы, угнетением печеночного синтеза белков, ингибированием глюконеогенеза, выходом кислых органических анионов (лактата) в кровь [27,28,29,30].

В виде реакции печени на воздействие токсина осуществляется синтез и секреция первичных медиаторов воспаления – цитокинов. Цитокинам принадлежит важная роль в развитии и течении многих заболеваний органов и систем, в том числе и печени. Цитокины – гуморальные регуляторы в пико- и наномолярных концентрациях в нормальных и патологических условиях модулирующие функциональные активности индивидуальных клеток и тканей. Эти вещества влияют на взаимодействие непосредственно между клетками и регулируют процессы, имеющие место во внеклеточном окружении. Цитокины обладают аутокринным, паракринным и юкстакринным способом регуляции клеточного ответа [32,33,46,47]. Цитокины представляют собой обширную гетерогенную группу низкомолекулярных белков и пептидов. Им принадлежит важная роль в развитии и течении заболеваний органов и систем, в том числе и печени. В настоящее время идентифицировано более 100 цитокинов и их число продолжает увеличиваться. Наиболее изучены интерлейкины, факторы некроза опухолей, факторы роста, интерфероны [33,43].

Основным провоспалительным действием среди цитокинов обладают: туморнекротизирующий фактор- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкин-6 (IL-6) и интерлейкин 8 (IL-8). Данные цитокины осуществляют экспрессию межклеточных адгезионных молекул. Купферовские клетки (КК) являются основными продуцентами провоспалительных цитокинов. При избытке продукции TNF- $\alpha$  выходит из печени в системную циркуляцию крови. В исследованиях Д.Н. Маянского (1991) после обработки КК эндотоксином *in vitro* в них повышалась активность фосфолипазы- $A_2$ , что сопровождается запуском арахидонового каскада и наработкой эйкозаноидов [31].

Доказано, что способностью инициировать каскад воспалительно-

регенераторных процессов, стимулировать пролиферацию клеток печени, регулировать окислительный метаболизм макрофагов, стимулировать синтез острофазных белков печени, снижать синтез провоспалительных цитокинов обладает TNF- $\alpha$  [35,36,37].

Естественные клетки киллеры и другие иммунокомпетентные клетки опосредуют гепатотоксический эффект, принимают участие в апоптозе поврежденных клеток. Повышение уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови характеризует процессы воспаления и элиминации клеток путем прямой цитотоксичности или апоптоза [38].

Другой цитокин - TFR  $\beta$  (трансформирующий фактор роста) относится к группе цитокинов, стимулирующих регенеративные процессы. Изменение содержания данного цитокина наблюдается при вирусных поражениях печени.

В качестве одного из индукторов пролиферации эпителиоцитов выступает ИЛ-1 $\beta$ , который запускает воспалительно-регенераторный каскад. Повышение содержания данного цитокина отмечено при вирусном гепатите. Низкие показатели содержания цитокина в периферической крови имели место у больных с алкогольными поражениями печени, нарушениями обмена веществ, раком печени [39].

Природным ингибитором воспаления является ИЛ-4, продуцируемый Т-хелперами, который ограничивает распространенность и интенсивность воспаления, ингибирует синтез макрофагами провоспалительных цитокинов. Максимальное повышение содержания ИЛ-4 отмечено при хроническом гепатите, умеренное - при аутоиммунных поражениях печени, минимальное - при алкогольных поражениях, раке печени [40,41,42].

Цитокины крови инактивируются в печени. Нарушение этой инактивации при болезнях печени может служить причиной иммунных и обменных нарушений [13].

Обнаружено угнетение метаболизирующей функции печени в процессе интерферонотерапии у человека. При введении животным рекомбинантных препаратов  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  интерферонов (ИФ) наблюдалось снижение уровня Р-450 и угнетение биотрансформации лекарственных препаратов. В настоящее время способность угнетать микросомальные ферменты показана, помимо ИФ, для всей группы «ранних» провоспалительных цитокинов - TNF, TFR, ИЛ-2, ИЛ-6 [12,45].

Поражения печени различной этиологии, в том числе и токсические поражения, характеризуются резко выраженным угнетением клеточной и гуморальной форм иммунного ответа, в основе которого лежит дисбаланс функций иммунорегуляторных клеток и действия выделяемых ими цитокинов. Последние оказывают дестабилизирующее влияние на процессы регенерации, гемостаза. Иммуносупрессия при токсических поражениях печени обусловлена в первую очередь нарушением проницаемости мембран гепатоцитов, выходом в сосудистое русло и образованием в нем многочисленных соединений, обладающих иммуносупрессирующими свойствами [46,47,48].

Важнейшим медиатором острой фазы воспаления является ИЛ-6, который способствует активации фагоцитов, их миграции в место воспаления, а также высвобождению медиаторов воспаления – производных липидов, т.е. простагландина E<sub>2</sub>, тромбоксанов и фактора активации тромбоцитов. В печени снижается синтез альбумина и усиливается синтез белков острой фазы воспаления, включая ингибиторы протеаз, компоненты комплемента, фибриноген, церулоплазмин, ферритин и гаптоглобин. Уровень С-реактивного белка, который связывается с поврежденными и погибшими клетками, а также некоторыми микроорганизмами, может повышаться в 1000 раз [49,50].

TNF- $\alpha$  и ИЛ-1 тоже могут вызывать описанные изменения функции печени. Эти цитокины усиливают влияния друг друга на местные и общие проявления воспаления, поэтому сочетание этих двух цитокинов даже в небольших дозах способно вызывать полиорганную недостаточность и стойкую артериальную гипотонию [51].

Под влиянием токсинов КК и гепатоциты выделяют ИЛ-8, который стимулирует нейтрофилы. На поверхности нейтрофилов под влиянием ИЛ-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  происходит экспрессия интегринов. Избыточная секреция TNF- $\alpha$  ведет к увеличению объема гепатоцитов приблизительно на 20 % и обуславливает быстрое формирование гепатомегалии, индукцию гепатоцеллюлярного апоптоза, развитию холестаза [15, 52].

Нарушение структуры и повышение проницаемости клеточных мембран при патологии печени обусловлено также усилением свободно-радикальных процессов, перекисного окисления липидов (ПОЛ) и повышением активности фосфолипаз клеточных мембран. TNF- $\alpha$  индуцирует нейтрофилы к высвобождению ряда биологических молекул, таких как перекись водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), активных радикалов кислорода (O<sub>2</sub>), эластазы. Это приводит к ингибированию в гепатоцитах активности каталазы пероксисом и угнетению гепатоцеллюлярной активности, нейтрализации перекиси водорода и других активных радикалов кислорода, образующихся в реакции пероксидации [53,54].

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению механизмов фиброгенеза, роль цитокинов в регуляции воспалительного процесса и фиброза печени у больных с гепатитами и циррозом печени до конца не выяснена. Остается открытым вопрос о том, возможно ли оценить степень активности воспаления и фиброгенеза в печени на основании определения концентрации цитокинов с различным спектром действия в сыворотке крови, что в конечном счете может способствовать разработке новых подходов к лечению заболеваний печени [55].

Таким образом, токсические поражения печеночных клеток ведут к каскаду патологических явлений, которые охватывают все грани гомеостаза. Поэтому адекватная гепатопротекторная терапия должна быть многогранной и всеобъемлющей и приводить к мембраностабилизирующему, репаративному, противовоспалительному, иммуномодулирующему, антиоксидантному эффектам. В связи с вышеуказанным, актуальной задачей

на сегодняшний день является разработка и внедрение эффективных гепатозащитных препаратов с большим спектром фармакологических свойств.

## **1.2 Медикаментозная защита печени при остром и хроническом гепатите токсического генеза**

В лечении и профилактике хронических заболеваний печени в течение многих лет считают перспективным применение препаратов растительного происхождения. Они обладают низкой токсичностью, достаточной эффективностью, широким спектром действия, часто оказывают положительное влияние на течение сопутствующей патологии. При этом доказанными гепатопротекторными свойствами обладают растительные полифенолы, в частности флавоноиды, производные оксикоричных кислот, секвестерпены [16].

Так, известен ряд препаратов из расторопши пятнистой: «Силимарин» «Легалон», «Карсил», «Силибор», «Гепабене», «Гепатофальк планта» и др. Механизм действия силимарина и его главного изомера силибинина основывается на трех основных биологических эффектах: мембраностабилизирующем, антиоксидантном и метаболическом. Мембраностабилизирующее действие реализуется через биохимическое взаимодействие флавоноида с мембранами гепатоцитов, его способностью ингибировать активность цАМФ. Метаболическое действие силибинина связано со стимуляцией биосинтеза белка и ускорением регенерации поврежденных гепатоцитов. Благодаря фенольной структуре силибинин обладает способностью улавливать свободные радикалы и эффективно прерывать патологический цикл ПОЛ: при этом он тормозит как образование малонового диальдегида, так и повышенное поглощение кислорода. Силибин способствует также значительному увеличению содержания, восстановленного глутатиона в печени, тем самым повышает защиту органа от окислительных стрессов, поддерживает ее нормальную дезинтоксикационную функцию [56,57,58].

В медицине широко практикуется применение суммарных полифенольных фитопрепаратов и биологических добавок из растительного сырья, а также комбинированные сухие растительные экстракты: «Симбектан» - сумма, содержащая сухой экстракт пижмы, жом плодов расторопши, зверобоя и березы; «Гепатофальк планта»- экстракт расторопши, читотела большого и турмерика яванского. Из листьев бархата амурского получают «Флакозид», тыква является сырьем для известных суммарных препаратов «Тыквеол» и «Тыквейнол» [59, 60].

Однако у препаратов расторопши имеется существенный недостаток, т.к. флавоноиды способствуют накоплению аскорбиновой кислоты в печени и одновременно замедляют выведение ее из организма. Флавоноиды усиливают ферментативное окисление аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты и таким образом предохраняют ее от

дальнейшего окисления и выведения из организма. Дегидроаскорбиновая кислота растворяется в жирах лучше аскорбиновой и, проникая через мембраны, интенсивнее накапливается в органах. Следствием этого является низкая регенеративная активность гепатоцитов.

Применение водорастворимого полисахаридного комплекса из корневищ и корней лабазника шестилепестного значительно ускоряет процессы репаративной регенерации на клеточном и внутриклеточном уровне, превосходя в этом отношении препараты расторопши [62].

Э.Т. Оганесян (2004) с соавторами описывают гепатопротекторное и гипохолестеринемическое средство, полученное из амброзии полыннолистной. Авторами изучены гепатозащитные свойства препарата на модели острого токсического поражения печени четыреххлористым углеродом. Была обнаружена нормализация функциональных и биохимических показателей состояния печени (АЛТ, ЩФ, общего билирубина в крови, общего белка, нуклеиновых кислот, триглицеридов в гомогенате печени) [63].

Анализ химического состава спиртового экстракта корней и корневищ родиолы розовой позволил предположить, а затем выявить гепатозащитные свойства этого препарата. Установлено, что при экспериментальном токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом, препарат способствует восстановлению активности АСТ, щелочной фосфатазы и конъюгированного билирубина в плазме до уровня показателей интактных животных [64].

Исследованиями надземной части горечавника бородатого установлен состав фенольной природы: иридоиды, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды и ксантоны. На основании этих компонентов разработано новое гепатопротекторное средство «Генцихол». В экспериментах на крысах препарат способствовал снижению активности маркеров цитолиза и содержания билирубина в сыворотке крови при остром токсическом гепатите. Авторами сделан вывод, что препарат препятствует деструкции клеточных и субклеточных мембран гепатоцитов [65].

Новый фитопрепарат на основе экстракта люцерны посевной, полученного по оригинальной технологии, обладает наряду с антиоксидантным, ранозаживляющим, противовоспалительным действиями, способностью стимулировать продукцию и выделение желчи, а также защищает гепатоциты [66].

В последние годы внимание исследователей привлекают тритерпеноиды лупанового ряда. Так выявлено, что производные бетулина, получаемого из коры березы, обладают цитостатическим, противовирусным, иммуномодулирующим, антиоксидантным и гепатопротекторными свойствами. На фоне токсического поражения печени комплексом цитостатических препаратов введение бетулоновой кислоты способствовало уменьшению степени дистрофических и некротических изменений в паренхиме печени, нормализуя микроциркуляцию, увеличивая пролиферативную активность гепатоцитов [67].

Выраженный гепатопротекторный эффект при токсических поражениях печени вызывают полиненасыщенные фосфолипиды, мембраностабилизирующий эффект которых обусловлен их антиоксидантными и заместительными свойствами. Группа фосфолипидных препаратов представлена на сегодняшний день аналогами эссенциале по действию и, отчасти, по химическому составу. Это препараты липостабил, Липин, мега-липин, эссель-форте, фосфолив, полиен и др. Перечень препаратов, влияющих на состояние мембранных фосфолипидов был бы неполным без упоминания группы липотропных средств. Это незаменимые факторы питания, относящиеся к витаминам и витаминоподобным веществам: холин, метионин, кислота липоевая, кальция пангамат, цианокобаламин и фолиевая кислота, экстракты и гидролизаты печени и др. Биологическая функция их состоит в обеспечении формирования «головной» части фосфоглицеролов, несущей остатки этаноламина, холина, серина, инозита и др. Наличие в организме достаточного количества липотропных факторов способствует «переключению» биосинтетических реакций в пользу фосфолипидов, что в свою очередь приводит к ликвидации жировой инфильтрации печени, обусловленной накоплением триглицеридов и служит источником структурного материала для обновления клеточных и субклеточных мембран [58,68].

Гепатопротектор эплир, содержащий фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, сульфолипиды и каротиноиды, является эффективным средством метаболической терапии острых и хронических форм гепатита и цирроза печени. Его лечебное свойство по данным авторов, превосходит терапевтический эффект эссенциале. Препарат, доставляя фосфолипиды в поврежденные мембраны гепатоцитов и оказывая антиоксидантное действие, улучшает биоэнергетику, антиоксидантную и экскреторную функцию печени [16, 69].

Активация свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) рассматривается многими авторами как ведущий механизм цитолиза при заболеваниях печени [70].

Свободнорадикальная концепция поражения печени открыла новые возможности для применения в практической гепатологии лекарственных средств с антиоксидантной направленностью, к которым относятся: токоферолы, аскорбиновая кислота, полифенолы,  $\beta$ -каротин и др. Токоферола ацетат, являясь обязательным структурным компонентом мембран, оказывает стабилизирующее действие на протоплазматические и субклеточные мембраны гепатоцитов при многих заболеваниях. Как антиоксидант и мембраностабилизатор он препятствует репрессии ферментов гидроксидирующей системы при ишемических и постишемических состояниях печени. Как гепатопротекторы препараты витамина Е применяют при острых и хронических токсических гепатитах, в том числе алкогольных и лекарственных, а также при воспалительных и дистрофических заболеваниях печени другой этиологии [71].

Следующий мощный антиоксидант - это витамин С, действие которого

усиливается в присутствии биофлавоноидов. Помимо своего антиоксидантного действия, витамин С обезвреживает многие токсические вещества и играет ключевую роль в иммунологических реакциях. Он увеличивает синтез интерферонов и стимулирует активность иммунокомпетентных клеток. При поражениях печени витамин С способствует сохранению нормального уровня церулоплазмينا сыворотки крови и цитохромоксидазной активности печени, повышает активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы, восстанавливая процессы тканевого дыхания. Как вспомогательное средство аскорбиновую кислоту используют в комплексной терапии поражений печени различными гепатотоксическими агентами, острых и хронических гепатитов, цирроза печени, сопутствующих заболеваний желчевыводящих путей. В то же время, как указывалось выше, большие дозы аскорбиновой кислоты, особенно в комбинации с флавоноидами способствуют замедлению регенеративных процессов в печени [75].

Однако, известные на сегодняшний день гепатопротекторы не могут полностью защитить или восстановить нарушенные функции гепатоцитов, поскольку любой из них влияет лишь на отдельные звенья патогенеза гепатоцитов. Поэтому современные гепатопротекторы используются в комплексной терапии. Следует учесть, что такой подход опасен взаимодействием препаратов вследствие полипрагмазии и осложнением течения заболевания. Кроме того, наиболее важным недостатком этих препаратов является недостаточная репаративная активность [71].

Обнаружено, что при резекции печени, она способна восстановиться за несколько недель. Эта способность объясняется тем, что в регенерации печени участвуют сразу три типа стволовых клеток. В том случае, если при повреждении печени был нарушен процесс регенерации, то в качестве источника стволовых клеток выступают холангиоциты мельчайших желчных протоков (каналов Геренга) [72,73,74,75].

Следовательно, бесспорным является необходимость применения в лечении заболеваний гепатобилиарной системы препаратов, не только защищающих гепатоциты от воздействия токсинов, но и стимулирующих регенеративные процессы, восстанавливающие гомеостаз.

Фетально-клеточный материал, как было показано, содержит в себе большое количество цитокинов и факторов роста, которые стимулируют не только сохранение и восстановление гепатоцитов, но и имеют возможность восстанавливать нарушенные звенья иммунитета и гомеостаза.

### **1.3 Проблемы и перспективы использования клеточных и внеклеточных компонентов фетальной ткани в лечении заболеваний печени**

Современная медицина по праву считается одной из наиболее динамично развивающихся отраслей практических знаний человечества. В первую очередь это связано с многовекторностью направлений, составляющую их методическую базу. Идеи, порой казавшиеся необоснованными и даже нереальными, сегодня широко внедряются в практику. Особое внимание уделяется разработке биотехнологий, которые часто бывают более экономически выгодны, эффективны, чем традиционные.

Примером может служить фетально-клеточная терапия. Она является той областью медицины, в которой происходит наиболее интенсивное изучение, казалось бы, чисто теоретических вопросов, таких как биология стволовых клеток, клеточная дифференциация, молекулярные механизмы регуляции экспрессии генетической информации и т.д. [3,76]. Однако исследования, проводимые в указанных направлениях, могут служить фундаментальным обоснованием для внедрения в клиническую практику методов фетально-клеточной терапии.

Учитывая, что традиционные фармакологические средства, далеко не всегда оправдывают возлагаемые на них надежды, особенно при длительно протекающих хронических заболеваниях, то применение пересадок эмбриональных и фетальных клеток человека и животных имеет, по-видимому, неограниченные перспективы. [77,78].

Это касается и лечения тяжелых деструктивных поражений печени. Последние достижения в области гепатологии наводят на мысли о необходимости поиска новых подходов в разработке методов профилактики и лечения таких поражений печени, как цирроз, алкогольный гепатит, хронический неспецифический гепатит, вирусные гепатиты и др. [79]

Доказано, что фетальные тканевые препараты нормализуют метаболические процессы в организме, обладают антиоксидантными свойствами, являются универсальными иммуномодуляторами, что определяет их основную роль - повышать устойчивость организма к воздействию неблагоприятных эндогенных и экзогенных факторов при различных формах патологии. Препараты тканевой терапии способствуют созданию в организме наиболее благоприятных условий для проявления его собственных защитных механизмов и компенсаторных возможностей, коррекции метаболических нарушений [80,81].

В настоящее время внимание ученых и клиницистов приковано к живым эмбриональным, фетальным и плацентарным клеткам. Биологические структуры на этапе раннего онтогенеза обладают уникальными свойствами: повышенным пролиферативным потенциалом, сниженной антигенной активностью, богатым содержанием ростовых, антибактериальных и анальгезирующих факторов. Уникальные свойства эмбриональных и

фетальных клеток определяют широкий спектр патологических состояний, при которых используется клеточная терапия [82].

Представляется важной с медицинской точки зрения способность фетальных клеток тормозить, а в некоторых случаях реверсировать развитие грубоволокнистой соединительной ткани. Такое торможение создает важные дополнительные предпосылки для эффективного восполнения клеточных потерь организма новыми функционально-полноценными клетками. Есть утверждения о том, что при экспериментальном циррозе печени у крыс трансплантация гепатоцитов приводит к росту новой здоровой ткани, компенсируя дефицит объема и функциональной активности поврежденных гепатоцитов реципиента. В.М. Темирбулатовым и соавт. (2002) предлагается способ лечения дистрофических поражений печени крыс свежезолированными эмбриональными гепатоцитами крыс. Имеются данные о стимуляции регенерации пораженной печени путем введения суспензии живых гепатоцитов человека в круглую связку печени [79, 114].

Согласно литературным данным трансплантация в пульпу селезенки криоконсервированных клеток фетальной печени человека (ККФПЧ) улучшает функциональное состояние регенерирующей печени крыс после 70%-ной гепатэктомии. При этом рассматривается трансплантация фетальных клеток печени как перспективный метод лечения печеночной недостаточности [80].

В фетальной ткани имеются клетки, которые могут дифференцироваться в зависимости от микроокружения в клетки разных органов и тканей. Эти клетки способны значительно повысить адаптивные возможности организма за счет усиления процессов физиологической и репаративной клеточной регенерации. Поэтому внимание ученых обращено не только на использование фетальной ткани для восполнения клеточного дефицита, но и восстановление различных звеньев гомеостаза организма [83,84].

Так, для коррекции возрастных изменений иммунной системы человека в область передней брюшной стенки вводили суспензию фетальных тканей человека, предварительно определяя биологический возраст человека и возраст иммунной системы. Результатом эксперимента было значительное уменьшение дозы ранее назначенных гормональных препаратов, отмечено улучшение тургора кожи, прекращение выпадения волос, выраженное субъективное улучшение самочувствия [85].

Фетальные клетки способны длительно и комплексно влиять на органы и ткани взрослого организма. Результатом такого влияния является значительное повышение регенераторных и адаптивных возможностей организма. Вызываемое фетальными клетками «обновление» организма, по-видимому, может препятствовать развитию процессов, ведущих к старению организма. Поэтому, использование ФК целесообразно в лечении целого спектра связанных со старением заболеваний.

Некоторые ученые рассматривают фетальную терапию, как активную специфическую иммунотерапию, направленную, например, на стимуляцию в организме, пораженном злокачественным процессом, реакций против

антигенов опухолевой клетки. На сегодняшний день ясна перспективность применения фетальных протеинов в противоопухолевой терапии. В то же время недостаточный уровень изученности механизмов их действия ограничивает более широкое применение в клинических условиях [90,91].

Еще в 1978 году в трудах В.М. Мирошникова показаны результаты изучения репаративных свойств фетальной сыворотки крови. Им обнаружено, что при введении фетальной сыворотки отмечалось ускорение развития грануляций в послеоперационной ране желудка, а также восстановление сосудистой сети места повреждения за счет быстрого проникновения ее отдельных элементов со стороны неизмененных тканей [92].

В плацентарных и эмбриональных тканях находится большое количество различных регуляторных веществ, таких как фактор роста фибробластов, фактор, стимулирующий рост макрофагальных и эритроидных колоний, инсулиноподобный и эндотелиноподобный факторы роста, и что особенно важно антипролиферативные цитокины, предотвращающие гиперстимуляцию. Эти вещества являются мощными регуляторами, влияющими на собственные клетки организма реципиента, корректирующими их функциональное состояние и взаимодействие, что во многих случаях способствует восстановлению их нормальной жизнедеятельности [93].

Несмотря на имеющиеся результаты экспериментальных и клинических исследований клеточной терапии на протяжении последних двух десятилетий, остается нерешенным ряд принципиальных вопросов и это тормозит дальнейшее внедрение метода в клиническую практику. В последнее время появляются все больше данных о том, что стволовые клетки, аналогично клеткам метастазирующих опухолей, воспринимают химические сигналы, направляющие их к тем местам в организме, где возникли повреждения. К ним относятся цитокины и факторы роста. Было обнаружено, что по сигналу IGF-1 (инсулиноподобный фактор роста -1) мышечные стволовые клетки направляются в длительные путешествия в организме животного, запуская процессы регенерации [81].

Изучение особенностей цитокин-индуцируемых клеточных сигналов позволило выделить основное свойство, присущее данным медиаторам – «плейотропность». Основным смыслом этого свойства заключается в том, что один цитокин может индуцировать различные биологические ответы на различных клеточных типах, и множество цитокинов могут проявлять на одном и том же типе клеток сходные эффекты [94].

Поэтому следующим после клеточной трансплантации этапом исследования является изучение факторов роста и цитокинов, управляющих рождением новых клеток, миграцией и созреванием молодых клеток, а также факторов, тормозящих каждый из этих процессов. Если ученые научатся управлять этими процессами, то наши представления о многих заболеваниях и патологических процессах кардинально изменятся.

В своих работах Ж.А.Доскалиев с соавт. (2006) доказывает

положительное влияние супернатанта фетальных гепатоцитов (медиаторные вещества) при различной патологии хирургического профиля. Однако на сегодняшний день нет экспериментального подтверждения лечебных эффектов данного супернатанта при различных патологических процессах. [7, 24, 117, 118].

Если удастся понять молекулярные механизмы саногенеза систем и органов, то в скором будущем появится надежда на то, что врачи овладеют методами, позволяющими запускать собственные ресурсы организма к восстановлению и совершенствованию. Изучение биологического действия "медиаторных веществ" фетальных клеток при экспериментальном гепатите является одним из элементов данного исследования.

## 2 Материалы и методы исследования

### 2.1 Общая характеристика материала

Для экспериментов были использованы 189 белых беспородных крыс обоего пола массой 180±30 г. Содержание и исследование животных осуществляли в соответствии с принципами Хельсинкской декларации по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей. Перед началом и в ходе эксперимента крыс содержали в стандартных условиях вивария на стандартном пищевом режиме. Животные для экспериментов были распределены в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 Распределение животных по сериям экспериментов и срокам наблюдения при моделировании острого и хронического гепатита

№ п/п		Группы опытов	n	Путь введения	Количество биохимических исследований	Количество морфологических исследований
1	Острый гепатит	Контроль 1 Интактные крысы (инфезол)	7	внутрибрюшинно	53	4
2		Контроль 2 Острый гепатит (парацетамол в дозе 1000мг/кг)	18	перорально	162	4
3		Контроль 3 Острый гепатит+эссенциале по 0,14 мл/кг	19	внутрибрюшинно	171	5
4		Острый гепатит + медиатор в дозе 0,1 мл/кг	19	внутрибрюшинно	171	5
5		Острый гепатит + медиатор в дозе 0,3 мл/кг	19	внутрибрюшинно	171	5
6		Острый гепатит + медиатор в дозе 0,5 мл/кг	18	внутрибрюшинно	162	3
7	Хронический гепатит	Контроль 1 Интактные крысы (инфезол)	7	внутрибрюшинно	53	4
8		Контроль 2 Хронический гепатит (четырёххлористый углерод в дозе 0,2 мл/100г)	24	перорально	168	5
9		Контроль 3 Хронический гепатит+ эссенциале по 0,14мл/кг	18	внутрибрюшинно	162	5
10		Хронический гепатит + медиатор в дозе 0,1 мл/кг	19	внутрибрюшинно	133	5
11		Хронический гепатит + медиатор в дозе 0,3 мл/кг	21	внутрибрюшинно	189	5
ИТОГО			189		1595	50

## **2.2 Характеристика объекта исследования**

При получении взвеси фетальных клеток в качестве надосадочной жидкости получают субстрат, содержащий в себе белково-пептидный комплекс (медиаторные вещества).

«Медиаторные вещества» фетальных клеток человека получали по разработанной в Национальном Научно-Медицинском Центре методике из фетальной печени плода после индуцированного выкидыша при прерывании беременности по медицинским и социальным показаниям, в сроках гестации от 16 до 22 недель (согласно рекомендациям, ВОЗ). «Медиаторные вещества» - это биомолекулярная масса, содержащая гормоны, альфа-фетопrotein, факторы роста, пептиды, цитокины, иммуноглобулины, электролиты и др. (состав определён в клинико-диагностической лаборатории ННМЦ, данные от 27.04.04 г).

## **2.3 Характеристика препарата сравнения**

Эссенциале – комплексный препарат, состоящий из «эссенциальных» (необходимых) фосфолипидов – диглицериновых эфиров холинфосфорной кислоты и ненасыщенных жирных кислот: линолевой, линоленовой и др. вместе с витаминами: пиридоксином, цианкобаламином, никотинамидом, пантотеновой кислотой. Эти «эссенциальные» фосфолипиды оптимально сочетаются с природными эндогенными фосфолипидами по химической структуре. Они, в основном, проникают в клетки печени, внедряясь в их мембраны. «Эссенциальные» фосфолипиды нормализуют функцию печени и ферментативную активность клеток печени, уменьшают уровень энергетических затрат печени, способствуют регенерации печени, преобразуют нейтральные жиры и холестерин в формы, облегчающие их метаболизм, стабилизируют физико- химические свойства желчи.

Эссенциале вводили в дозе 0,14 мл/кг внутривенно 1 раз в сутки.

## **2.4 Модель острого экспериментального гепатита**

Моделирование острого гепатита у экспериментальных животных вызывали введением парацетамола [9,10]. Известно, что высокие дозы парацетамола у человека могут приводить к острой печеночной недостаточности, сопровождающейся центрлобулярной дегенерацией и некрозом гепатоцитов. Токсичность парацетамола обусловлена взаимодействием его метаболита N-ацетил-p-бензохинонимина с белками печени и снижением уровня глутатиона в гепатоцитах. Высказывается предположение, что изменение функциональной активности паренхиматозных клеток печени (макрофагов, эндотелиальных клеток) имеет существенное значение в проявлении токсического действия парацетамола на печень [18, 19].

Парацетамол вводили в дозе 1000мг/кг внутрь 1 раз в сутки в течение 3

дней. Данная модель была выбрана вследствие хорошей воспроизводимости и адекватности клиническим проявлениям острого гепатита.

За 1 час до введения парацетамола и в течение 10 суток после моделирования острого гепатита крыс лечили «медиаторными веществами» фетальных клеток человека в дозе 0,1 мл/кг, 0,3 мл/кг и 0,5 мл/кг. Кратность введения составила 1 раз в 3-ое суток.

## **2.5 Модель хронического экспериментального гепатита**

Для экспериментального моделирования токсического гепатита чаще всего используют различные гепатотропные яды: прежде всего, четыреххлористый углерод.  $CCl_4$  является представителем группы истинных гепатотоксинов прямого действия, которые посредством своего физико-химического действия вызывают непосредственное поражение гепатоцитов, их органелл.

Однократное введение данного яда приводит к гепатозу. При повторном введении альтерация гепатоцитов характеризуется нарастающим ожирением, колликвационным и коагуляционным некрозом и выраженным перифокальным воспалением, большим количеством лимфоцитов, нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов в клеточном инфильтрате, т.е. развивается гепатит. Длительное введение приводит к фиброзу и циррозу печени [13].

По мнению А.А. Косых (1983) возникающая при введении четыреххлористого углерода патология печени по многим показателям сходна с клиническими формами хронических гепатитов и циррозов печени у людей. При введении яда в организм он расщепляется на свободные радикалы – трихлорметил и хлорин, которые блокируют SH-группы микросомальных ферментов [142, 143].

Хронический гепатит у экспериментальных животных вызывали введением в течение 45 дней 50 % масляного раствора четыреххлористого углерода в дозе 0,2 мл/100г с кратностью применения 3 раза в неделю, перорально [127].

За 1 час до затравки четыреххлористым углеродом в течение 45 суток экспериментальным животным вводили «медиаторные вещества» фетальных клеток человека в дозе 0,1 мл/кг и 0,3 мл/кг. Кратность введения составила 1 раз в 3 дня.

## **2.6 Биохимические методы исследования**

Биохимические методы исследования проводились в клинико-диагностической лаборатории на биохимическом анализаторе «Flexor vitalab PC AVL» производства Австрии.

Во всех группах в сыворотке крови изучали уровень активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание триглицеридов, холестерина, гамма-

глутаматтранспептидазы (ГГТП), общего белка, общего билирубина и показатель тимоловой пробы, так как они являются наиболее надежными критериями цитолитического процесса и метаболических нарушений в печени.

Изменения биохимических показателей сыворотки крови изучали на 2-й, 5-й и 10-й дни эксперимента, при хроническом гепатите на 15-й, 30-й и 45-й сутки и при лечении медиаторными веществами фетальных клеток и препаратом сравнения – эссенциале в вышеуказанные сроки наблюдения.

## **2.7 Морфологические методы исследования**

Патоморфологические исследования проводились на базе кафедры биологии с курсом гистологии Казахской государственной медицинской академии. Помощь при проведении морфологических исследований была оказана кандидатом медицинских наук, доцентом В.Х. Апсалямовым. Материалом для морфологических исследований являлась ткань печени интактных крыс, а также крыс, у которых моделировали острый и хронический гепатиты. Ткани животных извлекали во время аутопсии, фиксировали в 10 % растворе нейтрализованного мелом формалина. После фиксации материал обезвоживали в спиртах восходящей концентрации. Дальнейшую обработку и заливку материала в парафин осуществляли по общепринятой патогистологической методике [128,129]. Из парафиновых блоков изготавливали микроскопические срезы толщиной 5-7 микрон и окрашивали гематоксилин-эозином. Микроскопию гистологических препаратов производили на микроскопе Laboval -4 (Carl Zeiss Iena).

## **2.8 Статистические методы исследования**

Статистическую обработку данных проводили методами параметрической статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## **3 Влияние медиаторных веществ фетальных клеток на функциональное состояние гепатоцитов при остром парацетамоловом гепатите**

Для проведения данного эксперимента нами была использована модель экспериментального парацетамолового гепатита по описанной ранее

методике. Методика считается моделью острого токсического гепатита у мелких экспериментальных животных [18, 19]. Длительность эксперимента составила 10 дней.

Животные были разделены на 6 групп (по 7-8 крыс в каждой). В трех экспериментальных группах, животным за 1 час до введения парацетамола, а затем - 1 раз в два дня в течение 10 дней внутрибрюшинно вводили медиаторы фетальных гепатоцитов человека в дозах соответственно 0,1 мл/кг, 0,3 мл/кг и 0,5 мл/кг. Контрольные группы составили интактные крысы, которым внутрибрюшинно вводили инфезол в эквивалентном объеме (контроль 1); крысы, которым моделировали парацетамоловый гепатит (контроль 2) и крысы, которых после моделирования парацетамолового гепатита лечили внутрибрюшинным введением эссенциале в дозе 0,14 мл/кг (контроль 3).

### **3.1 Изменение биохимических показателей сыворотки крови экспериментальных крыс при остром парацетамоловом гепатите**

Известно, что при остром токсическом гепатите на первый план выступают явления цитолиза гепатоцитов. Первичные механизмы синдрома цитолиза тесно связаны с нарушением окислительного фосфорилирования, снижением энергопродукции, с последующим изменением функции и структуры клеток. Большое значение в диагностике острых гепатитов имеет определение активности АЛТ и АСТ, т.к. они являются наиболее надежными показателями цитолитического процесса в печени [2,18].

В данной серии экспериментов изучали динамику биохимических показателей в сыворотке крови: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаргатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутаматтранспептидазы (ГГТП), триглицеридов, холестерина, общего белка, общего билирубина, тимоловой пробы.

Результаты полученных в нашем эксперименте показали, что токсическое действие парацетамола и его метаболитов на печеночные клетки проявлялось существенным изменением активности ферментов цитолиза. Так, уровень аланинаминотрансферазы на 2-й день эксперимента в контрольной группе-2 животных был в 4,6 раз выше, чем у интактных крыс ( $335,20 \pm 202,70$  против  $71,86 \pm 3,43$  у/л,  $p_1 < 0,01$ ). На 5-й день эксперимента значения АЛТ в данной группе несколько снизились  $166,61 \pm 12,03$  у/л, однако к 10-му дню исследования уровень активности изучаемого фермента вновь повысился и был в 3,4 раза выше ( $250,57 \pm 33,37$  у/л,  $p < 0,001$ ), чем в группе интактных животных.

При изучении характера изменений каталитической активности АСТ в контрольной группе были обнаружены следующие изменения. В течение первых 5 суток наблюдения значения исследуемого параметра не имели достоверных отличий по сравнению с результатами, полученными на интактных крысах. В то же время к 10 суткам выполнения экспериментов

была обнаружена отчетливая тенденция к увеличению в крови уровня АСТ до  $366,14 \pm 39,63$  u/l, что было в 1,8 раза ( $p_1 < 0,001$ ) (таблицы 2,3) больше, чем в группе сравнения (контроль 1).

**Таблица 2 - Изменение уровня активности АЛТ (u/l) в сыворотке крови у крыс при остром гепатите**

Группа	Интактные (контроль1)	Острый гепатит (контроль 2)
День исслед	n=7	n=7
2	71,86±3,43	335,2±202,7 $p_1 < 0,01$
5	71,86±3,43	166,61±12,03
10	71,86±3,43	250,57±33,37 $p_1 < 0,001$

Примечания:  $p_1$  -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1

**Таблица 3 - Изменение уровня активности АСТ (u/l) в сыворотке крови у крыс при остром гепатите**

Группа	Интактные (контроль1)	Острый гепатит (контроль 2)
День исслед	n=7	n=7
2	204,43±26,17	195,57±121,3
5	204,43±26,17	194,07±49,9
10	204,43±26,17	366,14±39,63 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,01$

Примечания: 1  $p_1$  -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1  
2  $p_2$  -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем  
3  $p_3$  -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем

Анализ данных показал, что при экспериментальном остром гепатите возникло существенное изменение тимоловой пробы. Так, уже на 2-й день исследования его значения в 1,5 раза ( $p_1 < 0,01$ ) превышали таковые в интактной группе. В дальнейшем на 5-й и 10-й дни исследования наблюдался еще больший рост показателя, когда он превысил уровень интактной группы в 3,9 раза и составил  $3,79 \pm 3,3$  и  $3,45 \pm 0,7$  ед соответственно ( $p_1 < 0,05$  и  $p_1 < 0,001$ ) (рисунок 1).

Биохимический анализ проб крови позволил выявить значительное увеличение концентрации билирубина в контрольной группе животных, подвергнутых токсическому действию парацетамола. Так, уровень билирубина в контрольной группе нелеченных животных на 2-й и 5-й день эксперимента превышал показатели интактных животных в 1,3 раза (таблица

4).

**Таблица 4 - Изменение уровня билирубина (мкмоль/л) при остром гепатите у крыс**

Группа	Интактные (контроль 1)	Острый гепатит (контроль 2)
День исслед.	n=7	n=7
2	8,19±0,4	10,96±0,35 p <sub>1</sub> <0,001
5	8,19±0,4	10,81±1,36 p <sub>1</sub> <0,001
10	8,19±0,4	6,96±0,05 p <sub>1</sub> <0,001
Примечание: p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контролем		

Еще более выраженные изменения при остром парацетамоловом гепатите наблюдались в показателях уровня ГГТП. Если у интактных животных он составил 0,097 u/l, то при остром гепатите на 2-е сутки - 3,086 u/l, на 5-е - 3,84 u/l, а на 10-е сутки – 5,43 u/l, то есть отмечалась отчетливая динамика роста данного показателя на протяжении всего эксперимента (таблица 5). При этом активность ГГТП превышала значения, полученные в группе интактных крыс в 32-56 раз.

**Таблица 5 - Изменение уровня ГГТП (u/l) при остром гепатите у крыс**

Группа	Интактные (контроль 1)	Острый гепатит (контроль 2)
День исслед.	n=7	n=7
2	0,097±0,05	3,086±0,45 p <sub>1</sub> <0,05
5	0,097±0,05	3,84±1,8 p <sub>1</sub> <0,001
10	0,097±0,05	5,43±2,1 p <sub>1</sub> <0,001
Примечание: p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контролем		

Уровень щелочной фосфатазы в крови экспериментальных крыс, получавших токсическую дозу парацетамола на 2-е сутки эксперимента увеличился, а затем начал падать и к 10-м суткам составил 344,57±130,5 u/l в сравнении с 632,43±31,97u/l.

Моделирование острого парацетамолового гепатита практически не повлияло на уровень общего белка в сыворотке крови у экспериментальных крыс (таблица 6).

**Таблица 6 – Изменение содержания общего белка(г/л) в крови у крыс с острым парацетамоловым гепатитом**

Группа	Интактные (контроль 1)	Острый гепатит (контроль 2)
День	n=7	n=7

исслед		
2	64,94±6,02	63,43±0,88
5	64,94±6,02	63,73±4,46
10	64,94±6,02	59,24±9,76

Кроме того, в контрольной группе животных с острым парацетамоловым гепатитом уровень холестерина в первые пять дней эксперимента незначительно повысился по сравнению с показателями интактных животных. На 10-й день эксперимента содержание холестерина снизилось и было ниже значений интактной группы в 1,6 раз (таблица 7).

**Таблица 7 - Изменение содержания холестерина (ммоль/л) в сыворотке крови у крыс с острым парацетамоловым гепатитом**

Группа	Интактные (контроль 1)	Острый гепатит (контроль 2)
День исследования	n=7	n=7
2	1,9 ±0,33	2,11±0,48
5	1,9 ±0,33	2,29±0,40
10	1,9 ±0,33	1,16±0,09 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем		

Исследования показали, что уровень триглицеридов в контрольной группе нелеченных животных во 2-й день эксперимента в 4 раза превышал показатель интактных животных. В последующие сроки наблюдения, напротив, происходило существенное снижение содержания триглицеридов в сыворотке крови. Так, на 5-й день проведения экспериментов оно составляло 1,72±0,75ммоль/л, что было в 3,1 раза меньше, чем в группе интактных животных. Однако на 10-й день различия по данному показателю нивелировались (таблица 8).

**Таблица 8 -Изменение уровня триглицеридов (ммоль/л) в сыворотке крови крыс при острым парацетамоловом гепатите**

Группа	Интактные (контроль1)	Острый гепатит (контроль2)
День исследования	n=7	n=7
2	0,54±0,28	2,06±0,61 p <sub>1</sub> <0,001
5	0,54±0,28	1,72±0,65 p <sub>1</sub> <0,01

10	0,54±0,28	0,87±0,1 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем		

Таким образом, токсическое действие парацетамола и его метаболитов на печеночные клетки проявилось существенным изменением активности ферментов цитолиза. Во все дни эксперимента наблюдалось увеличение АЛТ, АСТ. Кроме того, было повышение тимоловой пробы в 4 раза, являющийся критерием ранней диагностики нарушения белкосинтетической функции печени. При анализе активности ГГТП выявили ее увеличение, которое считают результатом нарушения оттока желчи. Так же было обнаружено уменьшение в крови содержания холестерина, концентрация общего белка была без изменений в сравнении с интактными животными. Количество билирубина в начальные сроки исследования повысилось, а на 10-е сутки выявилось его снижение, что служит доказательством нарушения пигментного обмена.

### 3.2 Влияние эссенциале на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных крыс при остром парацетамоловом гепатите

В данной серии экспериментов изучалось влияние известного гепатопротектора эссенциале на биохимические показатели крови животных с экспериментальным острым гепатитом. Так, применение препарата сравнения – эссенциале на фоне парацетамолового гепатита способствовало восстановлению уровня активности АЛТ в сыворотке крови до показателей интактной группы. При этом на 5-е сутки выполнения опытов его значения были равны 76,13±29,26 u/l (p<sub>2</sub><0,001). На 10-е сутки исследования показатель активности фермента продолжал оставаться на этом же уровне (таблица 9).

Лечение эссенциале не смогло сдержать рост уровня АСТ в сыворотке крови крыс с острым гепатитом, вызванным ведением парацетамола. В данной группе животных динамика изучаемого показателя оказалась аналогичной в группе нелеченных животных (контроль-2) (таблица 10).

Таблица 9 – Изменение активности АЛТ(у/л) в сыворотке крови при остром гепатите у крыс, леченных эссенциале

Группа День	Интактные (контроль1)	Острый гепатит (контроль2)	Острый гепатит +эссенциале (контроль3)
----------------	--------------------------	-------------------------------	--

Исслед	n=7	n=7	n=8
2	71,86±3,43	335,2±202,7 p <sub>1</sub> <0,01	88,96±3,55
5	71,86±3,43	166,61±12,03	76,13±29,26 p <sub>2</sub> <0,001
10	71,86±3,43	250,57±33,37 p <sub>1</sub> <0,001	76,31±21,60 p <sub>2</sub> <0,001

Примечания: 1 p<sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 1  
2 p<sub>2</sub>-показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2

**Таблица 10 - Изменение активности АСТ(u/l) в сыворотке крови при остром гепатите у крыс, леченных эссенциале**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	Острый гепатит (контроль2) n=7	Острый гепатит +эссенциале (контроль3) n=8
2	204,43±26,17	195,57±121,3	199,8±34,7
5	204,43±26,17	194,07±49,9	308,57±75,1 p <sub>1</sub> <0,05
10	204,43±26,17	366,14±39,63 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,01	318,57±29,44 p <sub>1</sub> <0,01

Примечания: 1 p<sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 1  
2 p<sub>2</sub>-показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем  
3 p<sub>3</sub>-показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем

На 2-й день эксперимента показатель тимоловой пробы не отличался от контроля-2 (нелеченные с острым гепатитом), то есть также превышал уровень интактных, в 1,5 раза. Однако дальнейшая динамика данного показателя в группе сравнения (контроль-3) резко отличалась от таковых нелеченных животных. Полученные результаты свидетельствовали о том, что применение эссенциале вызывало нормализацию показателя тимоловой пробы на 5-й и 10-й дни эксперимента (рисунок 1).

Уровень билирубина в группе сравнения, получавшей на фоне интоксикации парацетамолом, эссенциале на 2-е, 5-е и 10-е сутки эксперимента не отличался от контрольной группы-2 нелеченных животных. Однако он в 1,2-1,4 раза превышал показатели интактной группы (таблица 11).

**Таблица 11 - Изменение уровня билирубина (мкмоль/л) при остром гепатите у крыс, леченных эссенциале**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	Острый гепатит (контроль2) n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль3) n=8
2	8,19±0,4	10,96±0,35 P <sub>1</sub> <0,001	9,29±0,33 p <sub>1</sub> <0,01

5	8,19±0,4	10,81±1,36 p <sub>1</sub> <0,001	9,78±0,55 p <sub>1</sub> <0,001
10	8,19±0,4	6,96±0,05 p <sub>1</sub> <0,001	10,01±0,21 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2			

В группе животных, леченных эссенциале (контроль-3), на 2-е сутки исследования содержание ГГТП было 2,30±0,70 u/l, p<sub>2</sub><0,05. На 5-е и 10-е сутки наблюдения уровень исследуемого показателя снизился в 3,3 раза и составил 1,63±0,84 u/l, (p<sub>2</sub><0,05) по сравнению с животными с острым гепатитом (контроль-2). Таким образом, лечение гепатопротектором способствовало значительному сдерживанию роста данного показателя (таблица 12).

**Таблица 12 - Изменение уровня ГГТП (u/l) при остром гепатите у крыс, леченных эссенциале**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	Острый гепатит (контроль2) n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль3) n=8
2	0,097±0,05	3,086±0,45 p <sub>1</sub> <0,05	2,3±0,30 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05
5	0,097±0,05	3,84±1,80 p <sub>1</sub> <0,001	1,56±0,45 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,05
10	0,097±0,05	5,43±2,10 p <sub>1</sub> <0,001	1,63±0,84 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2			

Лечение эссенциале неоднозначно влияло на изменение уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс с экспериментальным гепатитом. Так, на 2-й день эксперимента данный показатель был в 1,3 раза выше, чем у интактных животных, но при этом он не отличался от результатов контрольной группы- 2. В дальнейшем уровень активности ЩФ имел тенденцию к падению и на 5-й день уже был ниже, чем в контроле-2. На 10-й день исследования при сравнении изучаемых показателей различий между 2-й и 3-й группами не обнаруживалось, хотя они в 1,8 раза были ниже, чем у интактных животных.

Применение эссенциале при остром парацетамоловом гепатите способствовало снижению концентрации холестерина на 5-й и 10-й день эксперимента. При этом показатель холестерина снизился в 1,5 раза в сравнении с нелечеными животными (контроль-2) (таблица 13).

**Таблица 13 - Изменение содержания холестерина (ммоль/л) в сыворотке крови у крыс с острым парацетамоловым гепатитом, леченных**

## эссенциале

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	Острый гепатит (контроль2) n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль3) n=8
2	1,9 ±0,33	2,11±0,48	2,0±0,43
5	1,9 ±0,33	2,29±0,40	1,52±0,33 p <sub>2</sub> <0,01
10	1,9 ±0,33	1,16±0,09 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001	1,49±0,19 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,05
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем			

При остром парацетамоловом гепатите эссенциале приводило к уменьшению уровня триглицеридов в сыворотке крови в сравнении с контрольной группой -2. Во 2-й день эксперимента содержание триглицеридов было в 2 раза ниже, чем у нелеченных животных (p<sub>2</sub><0,05) и оставалось на этом уровне до конца эксперимента, так и не достигнув значений контрольной группы-1 (таблица 14).

**Таблица 14 - Изменение уровня триглицеридов (ммоль/л) в сыворотке крови крыс при остром парацетамоловом гепатите, леченных эссенциале**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	Острый гепатит (контроль2) n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль3) n=8
2	0,54±0,28	2,06±0,61 p <sub>1</sub> <0,001	0,94±0,11 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,05
5	0,54±0,28	1,72±0,65 p <sub>1</sub> <0,01	0,93±0,09 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,05
10	0,54±0,28	0,87±0,1 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001	0,89±0,07 p <sub>1</sub> <0,05
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем			

Таким образом, резюмируя результаты данной серии опытов можно заключить: применение на фоне острого экспериментального гепатита препарата сравнения - известного гепатопротектора эссенциале-способствовало восстановлению уровней АЛТ, холестерина, тимоловой пробы в сыворотке крови крыс до показателя интактной группы. Однако введение эссенциале не смогло сдержать рост уровня АСТ в сыворотке крови экспериментальных крыс, вызванный парацетамолом. Динамика изучаемого показателя в группе сравнения (контроль-3) аналогична динамике в группе нелеченных животных (контроль-2), что говорит о недостаточной эффективности этого препарата при данной форме печеночной недостаточности. В период проведения исследований выявилось уменьшение **уровня** активности ЩФ. В то же время введение данного гепатопротектора не повлияло на содержание триглицеридов, билирубина в сыворотке крови у крыс с острым парацетамоловым гепатитом.

### **3.3 Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных крыс при остром парацетамоловым гепатите.**

В данной серии опытов изучалось влияние "медиаторных веществ" фетальных клеток на динамику биохимических показателей сыворотки крови животных с острым гепатитом. Внутривенное введение медиаторов фетальных клеток на фоне моделирования острого парацетамолового гепатита существенным образом влияло на динамику маркеров цитолиза в сыворотке крови экспериментальных животных.

Использование "медиаторных веществ" фетальных клеток в различных дозировках способствовало достоверному снижению уровня активности АЛТ во все сроки проводимых исследований.

Уже на 2-й день эксперимента в группе животных, получавших медиаторы в дозе 0,1 мл/кг, уровень АЛТ составил  $101,46 \pm 30,47$  у/л, что было достоверно ниже, чем у животных контрольной группы -2 ( $p < 0,05$ ) (таблица 15).

В группе животных, которых лечили наименьшей дозой медиаторов 0,1 мл/кг, во все дни эксперимента показатель АСТ не отличался от такового у интактных животных (таблица 16). Однако применение медиаторов в дозах 0,3мл/кг и 0,5 мл/кг вызывало иную динамику ферментемии по АСТ. Если на 2-е и 5-е сутки наблюдения уровень АСТ соответственно повышался в 2,2 и 1,6 раза, то на 10-й день исследования он снизился и уже не отличался от значений интактной группы.

**Таблица 15 - Изменение уровня активности АЛТ (у/л) в сыворотке крови при остром гепатите у крыс, леченных медиаторами фетальных клеток**

Группа	Интактные	Острый	Острый	Острый гепатит+медиатор
--------	-----------	--------	--------	-------------------------

День исслед	(контроль1 ) n=7	гепатит (контроль2 ) n=7	гепатит+ Эссенциале (контроль3) n=8	0,1 мл/кг n=7	0,3 мл/кг n=7	0,5 мл/кг n=8
2	71,86±3,43	335,2±202,7 p <sub>1</sub> <0,01	88,96±3,55	101,46±30,47 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,05	117,43±19,19 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	120,14±3,29 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,01
5	71,86±3,43	166,61±12,0 3	76,13±29,26 p <sub>2</sub> <0,001	57,96±3,42 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	73,11±7,03 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001	77,51±2,54 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001
10	71,86±3,43	250,57±33,3 7 p <sub>1</sub> <0,001	76,31±21,6 p <sub>2</sub> <0,001	67,5±9,71 p <sub>2</sub> <0,001	76,47±16,41 p <sub>2</sub> <0,001	42,74±19,36 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001 p <sub>7</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль3 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с доза 0,1 мл/кг 5 p <sub>5</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с доза 0,3 мл/кг 6 p <sub>6</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 7 p <sub>7</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем						

Применение медиаторов в дозах 0,1мл/кг, 0,3мл/кг, 0,5 мл/кг привело к значительному сдерживанию роста показателя тимоловой пробы. При этом, на 2-й день исследования у животных, получавших наименьшую дозу медиатора (0,1 мл/кг) этот показатель был как у интактных животных, в то время как у животных, получавших медиатор в дозах 0,3 мл/кг и 0,5 мл/кг, уровень этого значения на 2-й день эксперимента понизился и был в 1,8 раза меньше показателя интактной группы и 2,8 раза – чем у нелеченных крыс (контроль-2) (p<sub>1</sub><0,05 и p<sub>2</sub><0,001).

**Таблица 16 - Изменение уровня активности АСТ(у/л) в сыворотке крови при остром гепатите у крыс, леченных медиаторами фетальных клеток**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	Острый гепатит (контроль2) n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль 3) n=8	Острый гепатит+медиатор		
				0,1 мл/кг n=7	0,3 мл/кг n=7	0,5 мл/кг n=8
2	204,43±26,17	195,57±121,3	199,8±34,7	259,43±33,9	429,4±69,81 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001	322,43±81,24 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,01
5	204,43±26,17	194,07±49,9	308,57±75,1 p <sub>1</sub> <0,05	259,43±32,27 p <sub>2</sub> <0,05	303,97±51,81 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,01	370,72±6,21 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,01
10	204,43±26,17	366,14±39,63	318,57±29,44	194,0±60,96	193,71±60,50	201,14±85,89

		$p_1 < 0,01$ $p_6 < 0,05$ $p_7 < 0,01$	$p_1 < 0,01$	$p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$	$p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$ $p_6 < 0,01$	$p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,05$ $p_7 < 0,01$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль3 4 $p_4$ -показатель достоверности различий в сравнении с доза 0,1 мл/кг 5 $p_5$ -показатель достоверности различий в сравнении с доза 0,3 мл/кг 6 $p_6$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 7 $p_7$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем						

При лечении больных крыс медиаторами в дозе 0,1 мл/кг динамика изменения концентрации билирубина не отличалась от группы животных, получавших эссенциале. Использование «медиаторных веществ» фетальных клеток в дозе 0,3 мл/кг вызывало уменьшение содержания билирубина до  $7,74 \pm 0,94$  мкмоль/л на 5-е сутки наблюдения, что было достоверно ниже, чем у животных контрольной группы -2. В группе животных с острым парацетамоловым гепатитом (контроль-2), леченных медиаторами в дозе 0,5 мл/кг, содержание билирубина достигло показателя интактной группы во 2-й день эксперимента и уже не изменялся в остальные дни исследования (таблица 17).

Лечение острого гепатита у крыс медиаторами в разных дозовых режимах неоднозначно влияло на уровень ГГТП в сыворотке крови. Так, на 2-е сутки

**Таблица 17 - Изменение уровня билирубина (мкмоль/л) при остром гепатите у крыс, леченных медиаторами фетальных клеток**

Группа День исслед	Интактные (контроль1)  n=7	Острый гепатит (контроль2)  n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль3)  n=8	Острый гепатит+медиатор		
				0,1 мл/кг  n=7	0,3 мл/кг  n=7	0,5 мл/кг  n=8
2	8,19±0,40	10,96±0,35 $p_1 < 0,001$	9,29±0,33 $p_1 < 0,01$	11,41±0,49 $p_1 < 0,001$	11,0±0,57 $p_1 < 0,001$	8,63±0,53 $p_2 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$
5	8,19±0,40	10,81±1,36 $p_1 < 0,001$	9,78±0,55 $p_1 < 0,001$	10,01±0,27 $p_1 < 0,001$ $p_6 < 0,001$	7,74±0,93 $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_6 < 0,001$	8,46±0,41 $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
10	8,19±0,40	6,96±0,05 $p_1 < 0,001$	10,01±0,21 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	9,83±0,49 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_6 < 0,001$	9,82±0,5 $p_1 < 0,001$ $p_6 < 0,01$ $p_7 < 0,001$	7,03±0,4 $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$ $p_6 < 0,05$ $p_7 < 0,05$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль3 4 $p_4$ -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,1 мл/кг 5 $p_5$ -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,3 мл/кг 6 $p_6$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 7 $p_7$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем						

эксперимента после введения «медиаторных веществ» в дозах 0,1 мл/кг и 0,5 мл/кг содержание ГГТП незначительно снизилось по сравнению с контролем-2. На 5-е сутки исследования активность ГГТП увеличилась в 2,2 - 2,3 раза ( $p_2 < 0,001$ ) по сравнению с животными с острым гепатитом (контроль-2). Однако на 10-й день наблюдения во всех экспериментальных группах, получавших медиаторы, наблюдался резкий спад показателя ГГТП в 5-9 раз в зависимости от дозы, приближаясь к уровню интактной группы.

На 10-й день эксперимента в контроле-2 исследуемый показатель превышал значение интактных животных в 56 раз, в то время как у леченных медиаторами - лишь в 10 раз (таблица 18).

При изучении показателя активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови у крыс с экспериментальным гепатитом после введения медиаторов в разных дозах наблюдалось снижение его уровня.

**Таблица 18 - Изменение уровня ГГТП (u/l) при остром гепатите у крыс, леченных медиаторами фетальных клеток**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	Острый гепатит (контроль2) n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль3) n=8	Острый гепатит+медиатор		
				0,1 мл/кг n=7	0,3 мл/кг n=7	0,5 мл/кг n=8
2	0,097±0,05	3,086±0,45 $p_1 < 0,05$	2,3±0,30 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	2,63±0,78 $p_1 < 0,001$	3,48±0,92 $p_1 < 0,001$	2,94±0,53 $p_1 < 0,001$
5	0,097±0,05	3,84±1,80 $p_1 < 0,001$	1,56±0,45 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$	8,97±0,71 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_6 < 0,001$	5,08±1,03 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_6 < 0,01$	8,61±0,57 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_5 < 0,001$ $p_6 < 0,001$
10	0,097±0,05	5,43±2,10 $p_1 < 0,001$	1,63±0,84 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	1,0±0,45 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_6 < 0,001$ $p_7 < 0,001$	1,0±0,50 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_6 < 0,001$ $p_7 < 0,001$	0,67±0,4 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_6 < 0,001$ $p_7 < 0,001$

Примечания: 1  $p_1$  -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1  
2  $p_2$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2  
3  $p_3$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль3  
4  $p_4$ -показатель достоверности различий в сравнении с доза 0,1 мл/кг  
5  $p_5$ -показатель достоверности различий в сравнении с доза 0,3 мл/кг  
6  $p_6$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем  
7  $p_7$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем

В группах животных, получавших "медиаторные вещества" фетальных клеток в дозах по 0,1 мл/кг и 0,3 мл/кг уменьшение уровня активности

щелочной фосфатазы до значений интактной группы, наблюдалось на 5-й день эксперимента и в дальнейшем исследуемый показатель не изменялся.

В 3-ей экспериментальной группе с использованием наибольшей дозы медиатора динамика изменения уровня активности ЩФ отличалась от групп животных, получавших медиаторы в дозах по 0,1 мл/кг и 0,3 мл/кг. При этом, на 2-й день исследования активность ЩФ была в 1,7 раз выше, чем в контроле-1 (интактные), и в 1,4 раза выше, чем в контроле-2 (нелеченные), достоверно отличаясь от показателей животных в группах, леченных меньшими дозами медиаторов. На 5-й день наблюдения уровень щелочной фосфатазы в этой экспериментальной группе все еще оставался высоким. Однако, на 10-й день исследования резко снизился по сравнению с другими группами (рисунок 3).

Введение на фоне острого парацетамолового гепатита медиаторов в разных дозовых режимах привело к изменению содержания общего белка. В дозе 0,1 мл/кг медиаторы на 2-й и 5-й дни эксперимента не изменяли уровень белка (64,47±2,14 г/л), однако на 10-й день показатель хоть и не отличался от значений интактных животных, но достоверно превысил значения двух других контрольных групп ( $p_2 < 0,001$  и  $p_3 < 0,05$ .)

"Медиаторные вещества" фетальных клеток в дозе 0,3 мл/кг способствовали уменьшению концентрации белка в первые дни эксперимента, что было в 1,13 раза ниже по сравнению с интактными животными и он составил 56,28±2,45 г/л,  $p_1 < 0,01$ , а на 10-й день наблюдения - 68,66±3,73 г/л, превышая показатели контрольных групп (64,94±6,02 г/л).

В третьей экспериментальной группе, леченной наибольшей дозой медиатора, во все дни эксперимента наблюдалось снижение содержания белка в сыворотке крови (таблица 19).

**Таблица 19 - Изменение содержания общего белка (г/л) в сыворотке крови у крыс с острым парацетамоловым гепатитом, леченных медиаторами фетальных клеток**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	Острый гепатит (контроль2) n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль3) n=8	Острый гепатит+медиатор		
				0,1 мл/кг n=7	0,3 мл/кг n=7	0,5 мл/кг n=8
2	64,94±6,02	63,43±0,88	64,2±4,23	64,47±2,14	56,28±2,45 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$	56,0±0,49 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
5	64,94±6,02	63,73±4,46	61,41±4,05	65,14±3,02	57,26±9,46	36,04±1,29 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$ $p_6 < 0,001$
10	64,94±6,02	59,24±9,76	60,61±2,60	69,66±5,73 $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,05$	68,66±3,73 $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,05$	43,91±8,34 $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,05$

					$p_7 < 0,001$	
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль3 4 $p_4$ -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,1 мл/кг 5 $p_5$ -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,3 мл/кг 6 $p_6$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 7 $p_7$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем						

Как видно из результатов, полученных в данной группе с применением медиаторов, на 2-й день исследования уровень холестерина в крови не менялся. Но уже на 5 -й день эксперимента во всех исследуемых группах наблюдались разнонаправленные изменения.

Так, введение медиаторов в дозе 0,1 мл/кг на 5-е сутки наблюдения привел к увеличению содержания холестерина, превышая уровень интактных животных в 1,7 раза ( $p_1 < 0,001$ ), значения показателей нелеченных животных (контроль-2) в 1,4 раза ( $p_2 < 0,01$ ). Однако уже на 10-й день эксперимента концентрация холестерина снизилась, достигнув уровня интактных животных ( $1,90 \pm 0,16$  ммоль/л).

В группе животных, получавших медиаторы в дозе 0,3 мл/кг, исследуемый показатель на 5-й день эксперимента сравнился с уровнем интактной группы  $1,89 \pm 0,59$  ммоль/л, на 10-й день наблюдения уже не изменялся.

Лечение медиаторами в дозе 0,5 мл/кг способствовало динамичному снижению уровня холестерина в 1,36 раза на 5-й день эксперимента ( $p_2 < 0,01$ ). На 10-й день исследования его содержание уменьшилось в 1,1 раза по сравнению с животными контрольной группы-2 (таблица 20).

**Таблица 20 - Изменение содержания холестерина (ммоль/л) в сыворотке крови у крыс с острым парацетамоловым гепатитом, леченных медиаторами фетальных клеток**

Группа День исслед	Интактные (контроль1)  n=7	Острый гепатит (контроль2)  n=7	Острый гепатит+ эссенциале (контроль3)  n=8	Острый гепатит+медиатор		
				0,1 мл/кг  n=7	0,3 мл/кг  n=7	0,5 мл/кг  n=8
2	$1,9 \pm 0,33$	$2,11 \pm 0,48$	$2,0 \pm 0,43$	$2,33 \pm 0,15$ $p_1 < 0,05$	$2,18 \pm 0,14$	$2,18 \pm 0,86$
5	$1,9 \pm 0,33$	$2,29 \pm 0,4$	$1,52 \pm 0,33$ $p_2 < 0,01$	$3,29 \pm 0,54$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,001$ $p_6 < 0,01$	$1,89 \pm 0,59$ $p_4 < 0,001$	$1,68 \pm 0,21$ $p_2 < 0,01$ $p_4 < 0,001$ $p_6 < 0,001$
10	$1,9 \pm 0,33$	$1,16 \pm 0,09$ $p_1 < 0,001$ $p_6 < 0,001$ $p_7 < 0,001$	$1,49 \pm 0,19$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$1,9 \pm 0,16$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,01$ $p_6 < 0,01$ $p_7 < 0,001$	$1,91 \pm 0,16$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,01$ $p_6 < 0,01$	$0,98 \pm 0,25$ $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$

						$p_6 < 0,01$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль2 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль3 4 $p_4$ -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,1 мл/кг 5 $p_5$ -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,3 мл/кг 6 $p_6$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 7 $p_7$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем						

Анализ данных, полученных при применении медиаторов во всех трех дозах, указывал, что уже на 2-е сутки эксперимента они способствовали снижению содержания триглицеридов в сравнении с контролем-2 ( $p_2 < 0,001$ ). На 10-й день исследования во всех группах животных, получавших медиаторы, показатель уровня триглицеридов достиг значений интактных животных  $0,54 \pm 0,28$  ммоль/л (таблица 21).

**Таблица 21 - Изменение уровня триглицеридов (ммоль/л) в сыворотке крови крыс при остром парацетамоловом гепатите, леченных медиаторами фетальных клеток**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7	О. гепатит (контроль2) n=7	О. гепатит+ эссенциале (контроль3) n=8	О. гепатит+медиатор		
				0,1 мл/кг n=7	0,3 мл/кг n=7	0,5 мл/кг n=8
2	$0,54 \pm 0,28$	$2,06 \pm 0,61$ $p_1 < 0,001$	$0,94 \pm 0,11$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$0,88 \pm 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	$0,71 \pm 0,01$ $p_2 < 0,001$	$0,75 \pm 0,01$ $p_2 < 0,001$
5	$0,54 \pm 0,28$	$1,72 \pm 0,65$ $p_1 < 0,01$	$0,93 \pm 0,09$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$1,31 \pm 0,16$ $p_1 < 0,001$ $p_6 < 0,01$	$1,56 \pm 0,29$ $p_1 < 0,001$ $p_6 < 0,001$	$0,56 \pm 0,01$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$ $p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$ $p_6 < 0,001$
10	$0,54 \pm 0,28$	$0,87 \pm 0,10$ $p_1 < 0,05$ $p_6 < 0,001$ $p_7 < 0,001$	$0,89 \pm 0,07$ $p_1 < 0,05$	$0,50 \pm 0,03$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$ $p_6 < 0,01$ $p_7 < 0,001$	$0,50 \pm 0,03$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$ $p_6 < 0,001$	$0,53 \pm 0,18$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,05$ $p_6 < 0,01$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 3 4 $p_4$ -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,1 мл/кг 5 $p_5$ -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,3 мл/кг 6 $p_6$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении со 2 днем 7 $p_7$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 5 днем						

Результаты выполненных исследований показали, что внутрибрюшинное использование «медиаторных веществ» фетальных клеток на фоне моделирования острого парацетамолового гепатита способствовало значительному сдерживанию роста уровня трансаминаз в сыворотке крови у экспериментальных крыс с острым парацетамоловым гепатитом, а также тимоловой пробы. Исходя из этого, можно судить об их значительной антицитолитической активности. При этом данная активность более

выражена при использовании препарата в дозах 0,1 и 0,3 мл/кг. Кроме того, нормализация показателей цитолиза при применении медиаторов более выражена, чем у животных, леченных эссенциале.

#### **4 Влияние медиаторных веществ фетальных клеток на функциональное состояние гепатоцитов при экспериментальном хроническом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом**

Для проведения данного эксперимента нами была использована модель экспериментального гепатита по описанной ранее методике, где в качестве токсического агента был использован четыреххлористый углерод, вводимый экспериментальным крысам в дозе 0,2 мл/100г [127]. Методика считается моделью хронического токсического гепатита у мелких экспериментальных животных. Длительность эксперимента составила 45 дней.

Животные были разделены на 5 групп (по 7-8 крыс в каждой). Контрольные группы составили интактные крысы, которым внутрибрюшинно вводили инфезол в эквивалентном объеме (контроль 1); крысы, которым моделировали хронический гепатит (контроль 2) и крысы, которых после моделирования хронического гепатита лечили внутрибрюшинным введением эссенциале в дозе 0,14 мл/кг (контроль 3).

В двух экспериментальных группах животных за час до введения  $CCl_4$ , а затем каждые 2 дня в течение 45 дней лечили внутрибрюшинным введением медиаторных веществ фетальных клеток в дозах 0,1 мл/кг (опытная группа 4) и 0,3 мл/кг (опытная группа 5).

Во всех изучаемых группах наблюдали динамику биохимических показателей в сыворотке крови: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаргатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутаматтранспептидазы (ГГТП), триглицеридов, холестерина, общего белка, общего билирубина.

##### **4.1 Изменение биохимических показателей сыворотки крови экспериментальных крыс при экспериментальном хроническом гепатите**

Известно, что  $CCl_4$  является представителем группы истинных гепатотоксинов прямого действия, которые посредством своего физико-химического действия вызывают непосредственное поражение гепатоцитов, их органелл. Токсическое действие  $CCl_4$  на печеночные клетки проявлялось существенным изменением активности ферментов цитолиза (АЛТ, АСТ). В наших экспериментах уровень АЛТ на 15-й день эксперимента составил  $154,85 \pm 24,72$  у/л, что было в 2,2 раза выше, чем в группе интактных

животных ( $p < 0,001$ ). К 30-му дню показатель несколько снизился, хотя все еще значительно превосходил значения интактной группы ( $p < 0,001$ ). На 45 сутки эксперимента ферментативная активность АЛТ вновь повысилась, соответствуя данным 15-х пятнадцатых суток наблюдения (таблица 22).

Таблица 22 - Изменение активности АЛТ (u/l) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите

Группа / День исследований	Интактные (контроль1) n=7 1	Хронический гепатит (контроль2) n=7 2
15	71,28±3,63	154,85±24,72 $p_1 < 0,001$
30	71,28±3,63	106,57±12,55 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
45	71,28±3,63	159,14±6,12 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем		

Уровень активности другого маркера цитолиза- АСТ так же характеризовался волнообразной динамикой изменений. Если на 15-й день исследований показатели АСТ соответствовали значениям равным 844,57±116,58 u/l ( $p_1 < 0,001$ ), то на 30-й день - 385,43±128,49 u/l ( $p_1 < 0,01$ ;  $p_2 < 0,001$ ). К 45 суткам наблюдения отмечалась повторная волна повышения уровня активности АСТ до 782,29±17,37u/l ( $p_1 < 0,001$ ) (таблица 23).

Таблица 23 - Изменение активности АСТ(u/l) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите

Группа / День исслед	Интактные (контроль1) n=7 1	Хронический гепатит (контроль2) n=7 2
15	204,429±26,17	844,57±116,58 $p_1 < 0,001$
30	204,429±26,17	385,43±128,49 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
45	204,429±26,17	782,29±17,37 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем		

Моделирование хронического гепатита у крыс сопровождалось неоднозначным изменением активности щелочной фосфатазы крови в разные сроки эксперимента. Так, на 15-е сутки исследования уровень щелочной фосфатазы в контрольной группе-2 был в 1,2 раза выше, чем у интактных животных ( $p < 0,001$ ). На 30-е сутки эксперимента показатель снизился и достиг уровня интактных животных. В последующие сроки исследования отмечалось снижение уровня активности щелочной фосфатазы, который к 45-м суткам составил  $443,71 \pm 13,73$ , что было в 1,4 раза меньше, чем у интактных крыс ( $p < 0,001$ )(таблица 24).

Таблица 24 - Изменение уровня активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите

Группа \ День исслед.	Интактные (контроль1) n=7	Хронический гепатит (контроль2) n=7
15	$632,43 \pm 31,97$	$757,0 \pm 86,23$ $p_1 < 0,01$
30	$632,43 \pm 31,97$	$604,71 \pm 163,03$
45	$632,43 \pm 31,97$	$443,71 \pm 13,73$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,05$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем		

Одновременно у животных в группе контроль-2 на 15-е и 30-е сутки эксперимента наблюдалось снижение ( $p_1 < 0,05$ ) уровня общего белка крови. Однако на 45-е сутки данный показатель контрольной группы вырос до уровня значений интактных животных (таблица 25).

Таблица 25 - Изменения уровня общего белка (г/л) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите

Группа \ День исслед.	Интактные (контроль1) n=7	Хронический гепатит (контроль2) n=7
15	$64,43 \pm 5,82$	$49,44 \pm 3,18$ $p_1 < 0,001$
30	$64,43 \pm 4,82$	$55,57 \pm 2,95$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
45	$64,43 \pm 5,82$	$64,86 \pm 4,0$ $p_2 < 0,001, p_3 < 0,01$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем		

Анализ результатов показал, что у животных контрольной группы-2 отмечались значительные изменения активности показателей холестаза (билирубина, холестерина и ГГТП). Так, на протяжении первых 30 суток после моделирования хронического гепатита, в результате длительного воздействия четыреххлористым углеродом у крыс выявлялась совершенно отчетливая динамика снижения концентрации билирубина. При этом на 15-е сутки исследования его содержание было равным  $3,57 \pm 1,20$  мкмоль/л ( $p_1 < 0,01$ ), а на 30-е -  $1,60 \pm 0,80$  мкмоль/л ( $p_1 < 0,01$ ). Однако к 45-м суткам наблюдения уровень билирубина увеличился до  $9,20 \pm 2,30$  мкмоль/л и уже не имел различий по сравнению с показателями интактной группы животных (рисунок 4).

При изучении содержания холестерина у животных с хроническим гепатитом на 15 -е сутки наблюдений отмечалось снижение его значений до  $1,00 \pm 0,36$  ммоль/л. После чего на 30-е сутки данный показатель вырос в 4 раза ( $p_1 < 0,001$ ) и оставался на этом уровне до конца эксперимента, составив  $5,20 \pm 1,72$  ммоль/л (рисунок 5).

Кроме того у крыс с хроническим токсическим гепатитом увеличился уровень ГГТП в сыворотке крови на 15-е сутки в 2,8 раза, на 30-е - в 4 раза и на 45-е - в 5 раз ( $p < 0,001$ ).

В результате развития хронического гепатита, вызванного введением четыреххлористого углерода, наблюдалось нарастание активности АЛТ и АСТ в 2-4 раза по сравнению с интактными животными (контроль -1). Причем показатели активности АСТ более высокие, чем АЛТ, что наблюдается при обострении хронических поражений печени (ХГ, ЦП). Исследуемые ферменты являются чувствительными индикаторами повреждения клеток печени. Кроме того, наблюдалось увеличение уровня щелочной фосфатазы, гипербилирубинемия, гиперхолестеринемия и повышение ГГТП, что свидетельствовало о повреждении цитоплазматических и внутриклеточных мембран гепатоцитов, нарушении клеточной проницаемости, следствием которых являются холестатические нарушения.

Анализ данных показал снижение уровня общего белка в крови крыс группы контроль-2 по сравнению с интактными животными. Изменение содержания данного показателя наблюдалось на 15-е и 30-е сутки наблюдения. Это подтверждает глубину нарушений белково-синтетических функций печени, которые влекут за собой нарушения биохимических адаптационных процессов.

Таким образом, полученные результаты биохимических исследований сыворотки крови при воздействии четыреххлористым углеродом в течение 45 суток в дозе 0,2 мл/кг свидетельствовали о развитии хронического токсического гепатита.

## 4.2 Влияние эссенциале на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных крыс при экспериментальном хроническом гепатите

В задачу данной серии экспериментов входило изучение влияния препарата сравнения - эссенциале на динамику биохимических показателей крови животных в разные сроки после моделирования хронического гепатита хлористоуглеродными соединениями.

Курсовое применение гепатопротектора эссенциале сопровождалось следующей динамикой изменения трансаминаз крови. Так, на 15-е сутки исследования уровень ферментемии по АЛТ оказался в 2,3 раза ( $p_2 < 0,001$ ) ниже, чем в группе животных контроль-2 и не отличался от таковых показателей у интактных крыс. Однако на 30-й день наблюдения отмечалось значительное увеличение ферментативной активности АЛТ до  $310,28 \pm 48,86$  u/l, что соответственно в 4,3 раза ( $p_1 < 0,001$ ) и в 2,9 раза ( $p_2 < 0,001$ ) превышало показатели интактной и группы контроль-2 исследования (таблица 26).

Таблица 26 - Изменение активности АЛТ(у/л), в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите, леченных эссенциале

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7 1	Хронический гепатит (контроль2) n=7 2	Хронический гепатит+ эссенциале (контроль3) n=7 3
15	71,28±3,63	154,85±24,72 $p_1 < 0,001$	67,0±21,59 $p_2 < 0,001$
30	71,28±3,63	106,57±12,55 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	310,28±48,86 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
45	71,28±3,63	159,14±6,12 $p_1 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	192,4±56,3 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Примечания: 1 $p_1$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 1 2 $p_2$ -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3 $p_3$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 4 $p_4$ -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем			

На фоне использования эссенциале обнаруживался сходный характер изменений АСТ. Если на 15-е сутки после моделирования хронического гепатита ферментативная активность АСТ была в пределах нормативных показателей, то на 30-е и 45-е сутки исследования она повысилась до  $544,43 \pm 24,62$  u/l ( $p_2 < 0,01$ ) и  $382,60 \pm 54,30$  u/l ( $p_2 < 0,001$ ) соответственно (таблица 27).

Таблица 27 - Изменение активности АСТ (у/л) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите, леченных эссенциале

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7 1	Хронический гепатит (контроль2) n=7 2	Хронический гепатит+ эссенциале (контроль3) n=7 3
15	204,429±26,17	844,57±116,58 p <sub>1</sub> <0,001	216,57±52,16 p <sub>2</sub> <0,001
30	204,429±26,17	385,43±128,49 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,001	544,43±24,62 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,001
45	204,429±26,17	782,29±17,37 p <sub>4</sub> <0,001	382,6±54,3 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем			

Анализ проб крови по определению активности ЩФ показал, что введение эссенциале способствовало снижению уровня данного фермента с 15-х по 30-е сутки после моделирования хронического гепатита в 2,6 и 2,3 раза по сравнению с контролем-2 (таблица 28). Однако на 45-е сутки исследования уровень активности ЩФ повысился и уже не отличался от результатов, зарегистрированных в группе интактных животных.

Таблица 28 - Изменение активности щелочной фосфатазы (у/л) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите, леченных эссенциале

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7 1	Хронический гепатит (контроль2) n=7 2	Хронический гепатит+ эссенциале (контроль3) n=7 3
15	632,43±31,97	757,0±86,23 p <sub>1</sub> <0,01	290,143±29,92 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
30	632,43±31,97	604,71±163,03	265,85±113,54 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
45	632,43±31,97	443,71±13,73 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,05	515,6±74,35 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем			

Из результатов, представленных в таблице 29 следует, что применение гепатопротектора эссенциале приводит к увеличению количества общего белка крови на 6% на 15-е сутки после моделирования хронического гепатита по сравнению с контрольной группой-2 животных.

Причем на 30-е и 45-е сутки исследования по содержанию общих протеинов крови животные данной группы перестали отличаться от интактных (таблица 29).

**Таблица 29 - Изменение содержания общего белка (г/л) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите, леченных эссенциале**

Группа День исслед	Интактные (контроль1) n=7 1	Хронический гепатит (контроль2) n=7 2	Хронический гепатит+ эссенциале (контроль3) n=7 3
15	64,43±5,82	49,44±3,18 p <sub>1</sub> <0,001	51,57±2,97 p <sub>1</sub> <0,001
30	64,43±4,82	55,57±2,95 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,05	68,85±4,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001
45	64,43±5,82	64,86±4,0 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,01	77,8±18,90 p <sub>3</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем			

При определении содержания билирубина в сыворотке крови крыс с хроническим гепатитом, в лечении которых использовался эссенциале, было обнаружено, что нормализации изучаемого показателя не происходило на протяжении всего периода исследования (рисунок 4).

Несмотря на проведение гепатопротекторной терапии путем применения эссенциале концентрация холестерина во все сроки наблюдения превышала значения интактной группы животных. Различия состояли лишь в том, что увеличение данного показателя было отмечено не на 30-е сутки, а на 15-е сутки после моделирования хронического гепатита. Причем к концу эксперимента содержание холестерина составляло 6,20±1,33 ммоль/л (p<sub>1</sub><0,001) (рисунок 5).

В определенной степени использование эссенциале приводило к ухудшению показателей, характеризующих активность ГГТП. Соответственно она превышала в 6-7 раз и в 3-5 раз значения, полученные в интактной и контрольной группах-2 животных (рисунок 6).

Таким образом, резюмируя результаты данной серии опытов можно заключить, что применение на фоне экспериментального хронического гепатита гепатопротектора эссенциале способствовало нормализации уровня общего белка в сыворотке крови до значений интактной группы.

Кроме того, эссенциале привело к снижению активности щелочной фосфатазы по сравнению с животными контрольной группы-2, хотя содержание данного фермента так и не достигло значений интактной группы. Однако, введение данного препарата не удержало рост уровней АЛТ, АСТ, билирубина, холестерина, ГГТП в сыворотке крови крыс, вызванный введением четыреххлористого углерода, что говорит о недостаточной эффективности этого препарата при данной форме печеночной недостаточности.

### 4.3 Влияние "медиаторных веществ" фетальных клеток на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных крыс при экспериментальном хроническом гепатите

Данная серия экспериментов была посвящена изучению характера влияния "медиаторных веществ" фетальных клеток, используемых в различных дозовых режимах на динамику основных биохимических показателей крови животных с хроническим токсическим гепатитом.

При использовании "медиаторных веществ" фетальных клеток в дозах 0,1 мл/кг и 0,3 мл/кг была обнаружена примерно одинаковая картина ферментемии по АЛТ в обеих опытных группах. Так, активность АЛТ на 15-е сутки после моделирования хронического гепатита соответствовала уровню нормативных показателей, которые были определены у интактных животных ( $69,29 \pm 10,35$  у/л и  $90,60 \pm 19,62$  у/л).

Несмотря на то, что использование "медиаторных веществ" фетальных клеток в дозах 0,1 мл/кг и 0,3 мл/кг на 30-е сутки исследования сопровождалось повышением активности АЛТ ( $253, 42 \pm 78,97$  у/л и  $154,42 \pm 17,27$  у/л), тем не менее на 45-е сутки наблюдения уровень ферментемии по АЛТ уже не отличался от нормативных показателей интактной группы крыс (таблица 30).

Лечение хронического гепатита «медиаторными веществами» до 15 суток эксперимента сдерживало рост ферментативной активности АСТ. Однако на 30-е сутки исследования в двух группах леченных (опытная группа 4 и опытная группа 5) животных показатель АСТ вырос, превысив уровни значений интактной группы и контроля-2. При этом в группе исследования, леченной медиаторами в дозе 0,1 мл/кг, АСТ увеличился в 1,9 раза.

Таблица 30- Изменение уровня активности АЛТ(у/л) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите, леченных "медиаторными веществами" фетальных клеток

Группа	Интактные (контроль1) n=7	Хронический гепатит (контроль2)	Хронический гепатит+ Эссенциале (контроль3)	Хронический гепатит+ 0,1 мл/кг	Хронический гепатит+ 0,3 мл/кг
--------	------------------------------	---------------------------------	---	--------------------------------	--------------------------------

День исслед	1	n=7 2	n=7 3	n=7 4	n=7 5
15	71,28±3,63	154,85±24,72 p <sub>1</sub> <0,001	67,0±21,59 p <sub>2</sub> <0,001	69,29±10,35 p <sub>2</sub> <0,001	90,6±19,62 p <sub>2</sub> <0,001
30	71,28±3,63	106,57±12,55 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001	310,28±48,86 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001	253,42±78,97 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001	154,42±17,27 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001
45	71,28±3,63	159,14±6,12 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001	192,4±56,30 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001	97,28±9,4 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001	67,0±21,59 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,01 p <sub>6</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 3 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,1 мл/кг 5 p <sub>5</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 6 p <sub>6</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем					

В то же время в группе животных, получавших медиаторы в дозе 0,3 мл/кг, отличие от интактных животных было в 3 раза больше (617,28±146,4 u/l против 204,429±26,17 u/l). На 45-е сутки лечения "медиаторными веществами" фетальных клеток в обеих экспериментальных группах активность АСТ соответствовала значениям интактных животных (таблица 31).

Такая же динамика, как в контроле-2 с хроническим токсическим гепатитом, наблюдалась и в группах животных, леченных "медиаторными веществами» в дозах 0,1мл/кг и 0,3 мл/кг. На 15-е сутки исследования уровень ЩФ в этих группах превышал значения контроля -1 соответственно в 1,5 и 1,3 раза. На 30-е сутки активность исследуемого показателя в обеих экспериментальных группах снизилась и соответствовала значениям интактной группы.

На 45-е сутки у животных, получавших медиаторы в дозе 0,1 мл/кг, активность ЩФ оставалась на этом уровне. На 45 сутки доза 0,3 мл/кг способствовала дальнейшему снижению уровня данного фермента (341,57±21,38 u/l), что было в 2 раза меньше по сравнению с интактной группой (632,43±31,97u/l; p<sub>1</sub><0,001) (таблица 32).

Таблица 31 - Изменение уровня активности АСТ(u/l) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите, леченных «медиаторными веществами" фетальных клеток

Группа День исслед	Интактные (контроль1)  n=7 1	Хронический гепатит (контроль2)  n=7 2	Хронический гепатит+ эссенциале (контроль3)  n=7 3	Хронический гепатит+ 0,1 мл/кг  n=7 4	Хронический гепатит+ 0,3 мл/кг  n=7 5
15	204,429±26,17	844,57±116,58 p <sub>1</sub> <0,001	216,57±52,16 p <sub>2</sub> <0,001	252,0±44,29 p <sub>2</sub> <0,05	245,6±33,2 p <sub>2</sub> <0,001

30	204,429±26,17	385,43±128,49 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,001	544,43±24,62 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,001	404,14±14,78 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001	617,28±146,4 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01
45	204,429±26,17	782,29±17,37 p <sub>4</sub> <0,001	382,6±54,3 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,001	172,43±32,7 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,001	239,71±26,11 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем					

Таблица 32 - Изменение активности щелочной фосфатазы (u/l) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите, леченных "медиаторными веществами" фетальных клеток

Группа День исслед	Интактные (контроль1)  n=7 1	Хронический гепатит (контроль2)  n=7 2	Хронический гепатит+ эссенциале (контроль3)  n=7 3	Хронический гепатит+ 0,1 мл/кг  n=7 4	Хронический гепатит+ 0,3 мл/кг  n=7 5
15	632,43±31,97	757,0±86,23 p <sub>1</sub> <0,01	290,143±29,92 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	962,429±77,89 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	800,7±39,4 p <sub>1</sub> <0,05
30	632,43±31,97	604,71±163,03	265,85±113,54 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	609,86±181,27 p <sub>5</sub> <0,01	715,0±21,44 p <sub>5</sub> <0,01
45	632,43±31,97	443,71±13,73 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,05	515,6±74,35 p <sub>5</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001	710,43±20,14 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,05 p <sub>5</sub> <0,01	341,57±21,38 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,05 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001
Примечания: 1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 3 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,1 мл/кг 5 p <sub>5</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 6 p <sub>6</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем					

При определении содержания общего белка в сыворотке крови крыс с хроническим токсическим гепатитом в обеих группах с использованием "медиаторных веществ" фетальных клеток в дозах 0,1 мл/кг и 0,3 мл/кг на 15-е сутки наблюдалось его снижение по сравнению с интактной группой. На 30-е сутки было обнаружено, что уровень изучаемого показателя достигал значений интактной группы. На 45-е сутки у животных, получавших медиатор в дозе 0,3 мл/кг, содержание общего белка увеличилось, составив 80,85±5,34 г/л, что в 1,25 раза больше, чем в группах контроль-1 и контроль-2 (p<sub>1</sub><0,001; p<sub>2</sub><0,001) (таблица 33).

При изучении влияния «медиаторных веществ» фетальных клеток на содержание билирубина при хроническом гепатите в дозе 0,1 мл/кг на 15-е сутки эксперимента наблюдалось, что концентрация его составила

6,7±1,5мкмоль/л, на 30-е сутки – 6,9±2,1мкмоль/л, а на 45-е сутки – 8,5±3,2мкмоль/л. Все показатели достоверно не отличались от значений интактных животных.

В группе животных, получавших медиаторы в дозе 0,3 мл/кг, содержание билирубина в сыворотке крови было на уровне, близком таковому в интактной группе (рисунок 4).

Таблица 33 - Изменение содержания общего белка (г/л) в сыворотке крови у крыс при хроническом экспериментальном гепатите, леченных "медиаторными веществами" фетальных клеток

Группа День исслед	Интактные (контроль1)  n=7 1	Хронический гепатит (контроль2)  n=7 2	Хронический гепатит+ эссенциале (контроль3)  n=7 3	Хронический гепатит+ 0,1 мл/кг  n=7 4	Хронический гепатит+ 0,3 мл/кг  n=7 5
15	64,43±5,82	49,44±3,18 p <sub>1</sub> <0,001	51,57±2,97 p <sub>1</sub> <0,001	49,85±1,95 p <sub>1</sub> <0,001	51,7±9,73 p <sub>2</sub> <0,001
30	64,43±4,82	55,57±2,95 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>5</sub> <0,05	68,85±4,01 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>5</sub> <0,001	63,43±9,0 p <sub>5</sub> <0,01	64,43±0,97 p <sub>2</sub> <0,001
45	64,43±5,82	64,86±4,0 p <sub>5</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,01	77,8±18,9 p <sub>5</sub> <0,001	56,85±3,21 p <sub>2</sub> <0,01	80,85±5,34 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001 p <sub>6</sub> <0,001
Примечания:1 p <sub>1</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 1 2 p <sub>2</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 2 3 p <sub>3</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с контроль 3 4 p <sub>4</sub> -показатель достоверности различий в сравнении с дозой 0,1 мл/кг 5 p <sub>5</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 15 днем 6 p <sub>6</sub> -показатель достоверности различий в динамике в сравнении с 30 днем					

Анализ концентрации холестерина при лечении хронического токсического гепатита медиаторами в дозе 0,1 мл/кг показал, что его уровень у экспериментальных крыс резких изменений в течение 1,5 месяцев наблюдения за животными не претерпевал, хотя и превышал показатели интактных животных в 3 раза, но все же был достоверно ниже, чем контроле-2 (p<0,001). То же можно сказать и о динамике уровня холестерина в группе животных, леченных медиаторами в дозе 0,3 мл/кг (рисунок 5).

Лечение медиаторами практически никак не повлияло на состояние уровня ГГТП у больных крыс, т.к. показатели во все дни эксперимента были в 2-3 раза выше, чем у интактных крыс и достоверно не отличались от значений животных контрольной группы -2.

Использование при хроническом токсическом гепатите в качестве гепатопротектора "медиаторных веществ" фетальных клеток способствовало изменению активности трансаминаз печени, что проявилось значительным

снижением уровня АЛТ и АСТ. При анализе результатов было обнаружено также уменьшение активности щелочной фосфатазы, содержания билирубина, которые свидетельствовали о нормализации холестатических нарушений. В то же время введение данного субстрата хотя и не восстановило уровень холестерина в сыворотке крови, но привело к снижению его концентрации по сравнению со значениями животных с хроническим токсическим гепатитом (контроль-2).

Кроме того, на основании полученных экспериментальных данных, можно утверждать, что введение "медиаторных веществ" фетальных клеток способствовало нормализации процессов синтеза белка в печени, которая проявилась ростом уровня общего белка в крови животных экспериментальных групп.

Таким образом, лечение "медиаторными веществами" фетальных клеток привело к снижению активности ферментов печени в крови экспериментальных крыс, что свидетельствовало о снижении процессов цитолиза и холестаза.

## **5 Морфологические изменения в печени у экспериментальных крыс при остром и хроническом гепатите и их коррекция "медиаторными веществами" фетальных клеток**

### **5.1 Морфологические изменения в печени при остром парацетамоловом гепатите у экспериментальных крыс и их коррекция "медиаторными веществами" фетальных клеток**

Механизмы развития острых медикаментозных поражений печени различны. В одних случаях изменения в печени возникают в связи с нарушениями клеточного метаболизма – цитотоксические поражения. В других – нарушается отток желчи, что морфологически проявляется в интралобулярном холестазе и в этом случае можно говорить о холестатических поражениях. Большинство истинных гепатотоксинов, в том числе и парацетамол, вызывают цитотоксические поражения печени [2].

Установлено, что в терапевтических дозах парацетамол метаболизируется, превращаясь в конъюгаты с глюкуроновой кислотой и сульфатами. При введении высоких доз ксенобиотика происходит изменение процесса его детоксикации: уменьшение образования сульфатированных метаболитов. Избыточные дозы парацетамола ингибируют функции печеночных митохондрий, снижая скорость глюкуронидации, что в конечном счете ведет к увеличению образования токсического продукта (взаимодействие парацетамола с гемопротеинами цитохрома P-450-11-E1), способствующего активации ПОЛ, нарушающего окислительное фосфорилирование в митохондриях, истощающего запасы глутатиона в гепатоцитах.

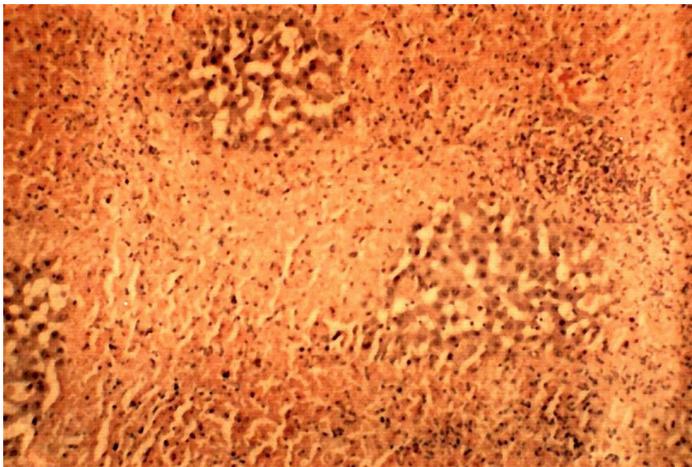
Главными типами острого цитотоксического поражения печени, как известно, являются дистрофические изменения, некроз и стеатоз, которые могут встречаться в самых разных комбинациях и вызывать сопутствующие воспалительные реакции.

В этом мы убедились, изучая морфологическую картину состояния гепатоцитов у экспериментальных животных контрольной группы-2, которых после моделирования острого парацетамолового гепатита наблюдали в течение 10 дней.

Морфологические исследования показали, что на 5-е сутки острого токсического гепатита у крыс, вызванного парацетамолом, нами наблюдался массивный периферолобулярный (перипортальный) некроз гепатоцитов, а также явления «эозинофильной дегенерации» клеток по периферии долек и выраженная инфильтрация некротизированных участков полиморфноядерными лейкоцитами. В относительно сохранных участках долек печени был нарушен ход печеночных балок, резко расширены синусоиды. Гепатоциты находились в различных вариантах дистрофических изменений с наличием признаков зернистой, гидropической и баллонной дистрофии клеток печени (рисунок 6).

На 10-е сутки исследования выраженные явления дистрофии и воспаления сохранились. Наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация междольковой соединительной ткани, расширение синусоидов между печеночными балками. Явления гидропической дистрофии печени прогрессировали. Имели место кариопикноз и дистрофические изменения эпителия желчных протоков. Были выявлены гепатоциты с гиперхромными ядрами в состоянии зернистой и гидропической дистрофии (рисунок 8).

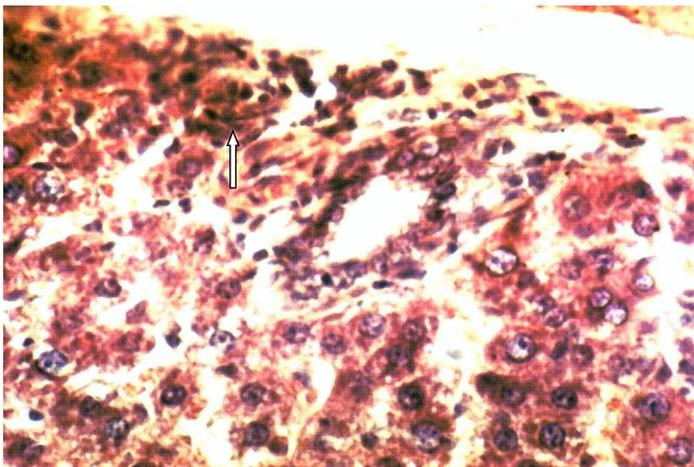
Таким образом, введение истинного гепатотоксина парацетамола способствовало, как и предполагалось, развитию острого токсического гепатита со всеми признаками, характеризующими данный процесс.



Массивный периферолобулярный (перипортальный) некроз гепатоцитов. Явления «эозинофильной дегенерации» клеток по периферии долек. Выраженная инфильтрация некротизированных участков полиморфноядерными лейкоцитами. В относительно сохранных участках долек печени нарушен ход печеночных балок, резко расширены синусоиды. Гепатоциты находятся в различных вариантах дистрофических изменений – признаки зернистой, гидропической и баллонной дистрофии клеток печени. (Гематоксилин – эозин. Увеличение X 100)

Рисунок 7 - Морфологические изменения печени крыс с острым токсическим гепатитом на 5-е сутки исследования

Лечение отравленных парацетамолом крыс препаратом сравнения эссенциале способствовало снижению островоспалительного компонента мезенхимальной реакции на 10-е сутки эксперимента. В препаратах печени крыс группы сравнения наблюдалось отсутствие полей некроза в печени.



Явления дистрофии и воспаления. Лейкоцитарная инфильтрация междольковой соединительной ткани (стрелки), расширение синусоидов между печеночными балками. Явления гидропической дистрофии печени. Кариопикноз и дистрофические изменения эпителия желчных протоков. Контроль. (Гематоксилин – эозин. Увеличение X 400).

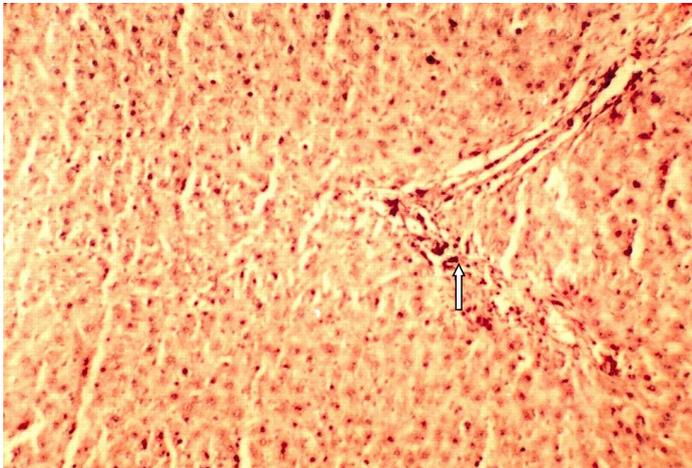
Рисунок 8 - Морфологические изменения печени крыс с острым токсическим гепатитом на 10-е сутки исследования

При этом обнаруживались участки нарушенного хода печеночных балок. Имели место гиперхромия и пикноз ядер части гепатоцитов, находящихся в состоянии зернистой дистрофии, признаки эозинофильной дегенерации. Одновременно выявлялась умеренная диффузная инфильтрация паренхимы печени полиморфноядерными лейкоцитами. При этом краевое стояние нейтрофилов в расширенных синусоидах и мелкоочаговые перипортальные лейкоцитарные инфильтраты в междольковой соединительной ткани характеризовали сохранение явлений воспаления (рисунок 9).

Значительный гепатопротекторный эффект наблюдается на 10-е сутки исследования в экспериментальной группе животных, пролеченных медиаторами фетальных клеток в дозе 0,1 мл/кг. При микроскопии препаратов данной группы животных мы наблюдали отсутствие полей некроза в печени, снижение активности дистрофических изменений гепатоцитов и сохранение лишь зернистой дистрофии. Часть клеток с базофильной цитоплазмой и гиперхромными ядрами дегенерировала апоптозом. Ход печеночных балок был сохранен. Воспалительные инфильтраты исчезали. В этом случае наблюдалось лишь умеренное краевое стояние лейкоцитов в расширенных синусоидах (рисунок 10).

На другом препарате этого же периода эксперимента (рисунок 11) отмечалось восстановление относительно нормальной структуры печени на 10-е сутки с сохранением признаков зернистой дистрофии гепатоцитов и

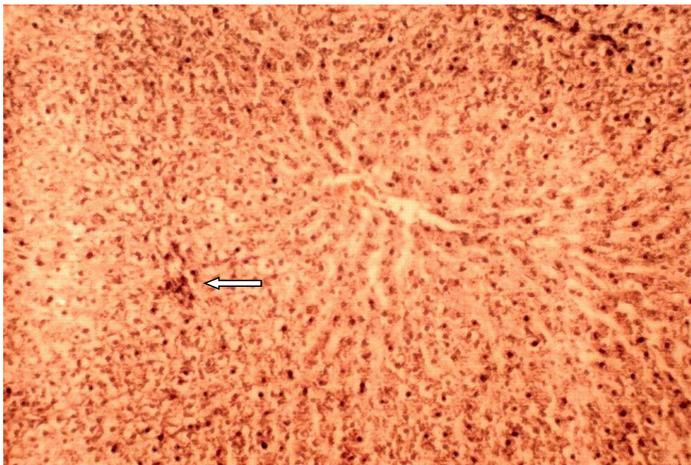
апоптозом отдельных гепатоцитов.



Мелкоочаговые перипортальные лейкоцитарные инфильтраты в междольковой соединительной ткани (Гематоксилин – эозин. Увеличение X 100).

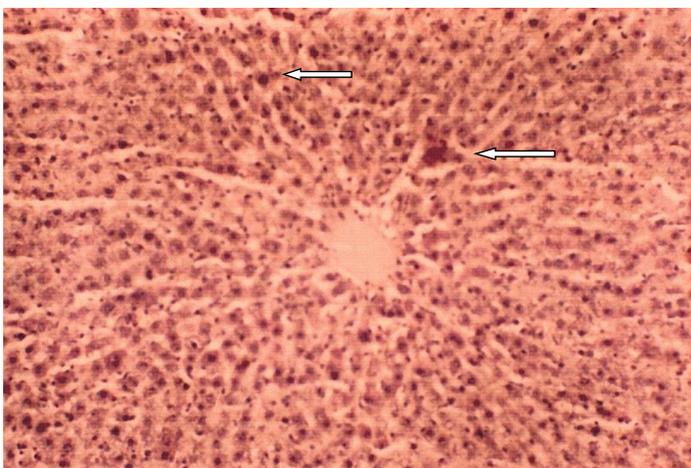
Рисунок 9 - Печень крысы опытной группы, получавшей после затравки парацетамолом в качестве гепатопротектора препарат «Эссенциале».

Таким образом, применение медиаторов фетальных клеток благоприятно влияло на течение токсического парацетамолового гепатита, о чем свидетельствует нормализация биохимических показателей активности гепатоцитов и восстановление морфологической картины печени. Причем по данным морфологических исследований медиаторы фетальных клеток по гепатозащитной активности превышают эффективность известного гепатопротектора - эссенциале.



Зернистая дистрофия. Часть клеток с базофильной цитоплазмой и гиперхромными ядрами дегенерирует апоптозом (стрелка). Ход печеночных балок сохранен. Умеренное краевое стояние лейкоцитов в расширенных синусоидах. (Гематоксилин – эозин. Увеличение X 100).

**Рисунок 10 - Печень крысы с острым гепатитом при лечении "медиаторными веществами" фетальных клеток на 10-е сутки наблюдения**



Восстановление относительно нормальной структуры печени на 10 сутки в опытной группе крыс при использовании в качестве гепатопротектора препарата «Медиатор». Признаки зернистой дистрофии гепатоцитов. Апоптоз отдельных гепатоцитов(стрелки). Гематоксилин – эозин. Увеличение X 100.

**Рисунок 11- Печень крысы с острым гепатитом при лечении "медиаторными веществами" фетальных клеток**

## 5.2 Морфологические изменения в ткани печени, выявленные у экспериментальных крыс с хроническим гепатитом и их коррекция "медиаторными веществами" фетальных клеток.

При воздействии гепатотропных ядов наибольшее значение в развитии поражений имеют механизмы непосредственного повреждения паренхимы печени. Клиническая картина заболевания и характер морфологических изменений, как правило, не зависят от вида токсического вещества, длительности течения заболевания. Хроническое отравление ядами создает условия для дальнейших патоморфологических изменений в печени.

В нашем эксперименте введение экспериментальным животным  $CCl_4$  в течение 30 суток привело к развитию хронического активного гепатита, проявлением которого в первую очередь становятся очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты в паренхиме печени, а в некоторых участках диффузная лейкоцитарная инфильтрация паренхимы. По литературным данным при хроническом токсическом гепатите первичной является воспалительная реакция, а гепатоцеллюлярные повреждения возникают вторично (рисунок 12) [125].

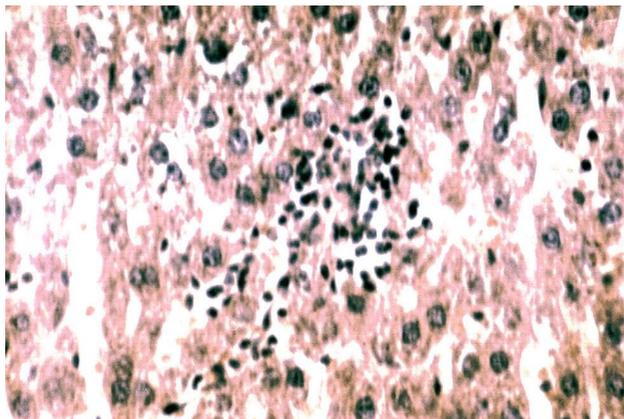
В сохранных гепатоцитах отмечалась зернистая и гидропическая дистрофия. Сочетание дистрофических процессов в печеночных клетках и воспалительно-пролиферативных в соединительной ткани печени, как известно, характеризуют степень агрессивности хронического гепатита (рисунки 12,13).

Полиморфизм ядер клеток печени сопровождается изменениями их размеров и окраски. Данный признак можно рассматривать и как признак регенерации клеток присущий такому виду патологии.

Расширение внутريدольковых синусоидных капилляров, структурных компонентов микроциркуляторного русла печени (пелиоза), также является одним из признаков токсического поражения печени. Данные исследований свидетельствовали о том, что паренхиматозные элементы были подвержены структурной перестройке, наблюдался нарушенный ход печеночных балок. Однако ложных долек, характерных для сформированного цирроза не было обнаружено, намечалось лишь их образование (рисунки 12,13).

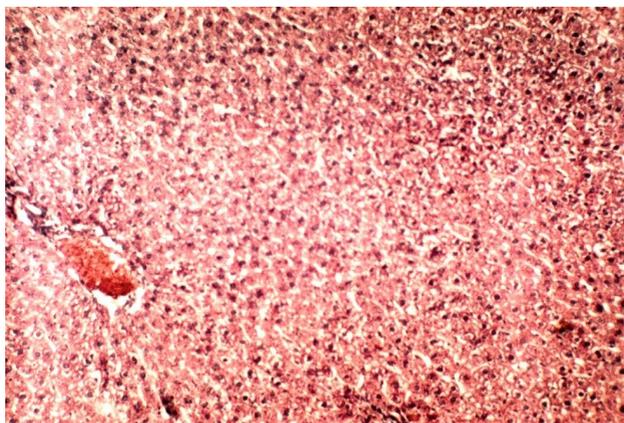
Таким образом, в препаратах печени экспериментальных крыс группы контроля-2, подвергавшихся в течение 45 суток токсическому воздействию  $CCl_4$ , нами обнаружены явные признаки сформировавшегося хронического активного гепатита. Наличие интенсивной воспалительной реакции указывало на активность хронического гепатита, в то время как развитие фибробластического компонента могло быть характерным для прогрессирования хронического агрессивного гепатита и его перехода в цирроз.

В группе сравнения (контроль-3) нами также моделировался хронический гепатит, индуцированный четыреххлористым углеродом.



Очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты в паренхиме печени. Расширение внутридольковых синусоидных капилляров. Зернистая и гидропическая дистрофия гепатоцитов. Полиморфизм ядер клеток печени. Гематоксилин – эозин. Увеличение X 400.

Рисунок 12- Морфологические изменения печени крысы на 30-е сутки хронической интоксикации четыреххлористым углеродом



Диффузная лейкоцитарная инфильтрация паренхимы печени. Нарушенный ход печеночных балок, расширение внутридольковых синусоидных капилляров. Зернистая дистрофия гепатоцитов. Окраска гематоксилин – эозином. Увеличение X 100.

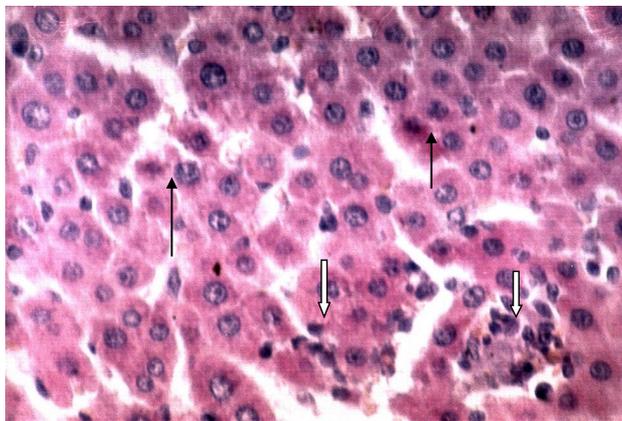
Рисунок 13 - Морфологические изменения печени крысы на 30 сутки хронической интоксикации четыреххлористым углеродом

Однако в данной группе за час до первой затравки и в последующем в течение 30 дней 3 раза в неделю крысам вводили внутрибрюшинно гепатопротектор эссенциале в дозе 0,14 мл/кг. На 30-е сутки крысы были выведены из эксперимента и проведено морфологическое изучение печени.

В результате исследований были обнаружены мелкоочаговые лейкоцитарные (преимущественно состоящие из лимфоцитов, плазмоцитов и макрофагов) инфильтраты стромы и паренхимы печени, которые являлись свидетельством того, что воспалительный процесс в печеночной ткани уже не столь резко выражен, однако полностью еще не устранен (рисунок 14).

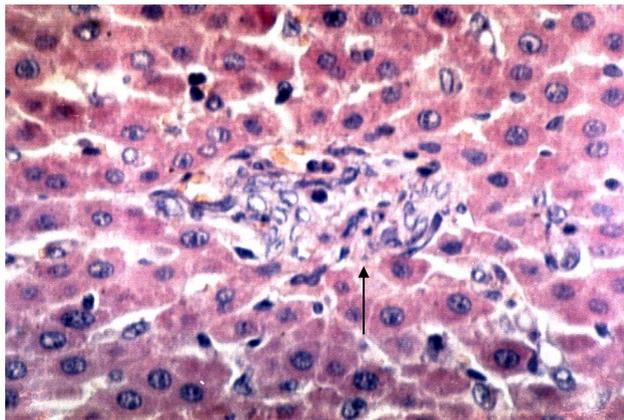
В этом случае в достаточной степени сохраняется зернистая дистрофия, как признак дистрофических изменений в паренхиме печени. Однако выраженный полиморфизм ядер гепатоцитов говорит о наличии регенеративных процессов. При этом часть гепатоцитов претерпевает апоптоз (рисунок 14).

Выявленная морфологическая картина в печени у крыс группы сравнения показала, что, несмотря на некоторое уменьшение воспалительных и дистрофических процессов, в печеночной ткани еще сохранялись признаки хронического гепатита.



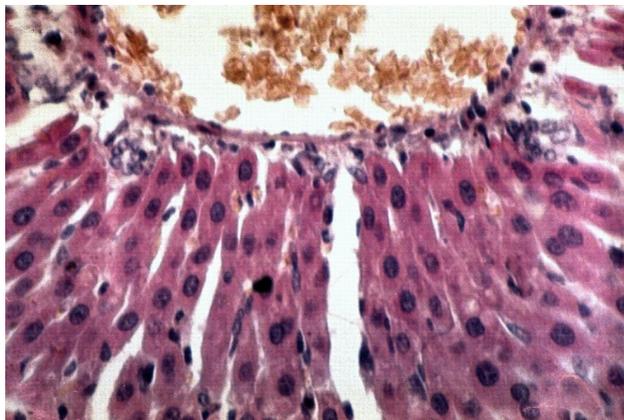
Мелкоочаговые лейкоцитарные (преимущественно состоящие из лимфоцитов, плазмоцитов и макрофагов) инфильтраты стромы и паренхимы печени (стрелки). Зернистая дистрофия и выраженный полиморфизм ядер гепатоцитов. Часть гепатоцитов претерпевает апоптоз (черные стрелки). Гематоксилин – эозин. Увеличение X 400.

Рисунок 14 -Морфологические изменения печени крысы на 30 сутки хронической интоксикации четыреххлористым углеродом при лечении эссенциале



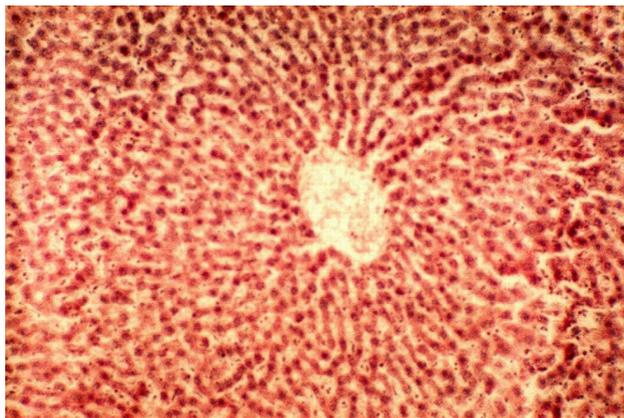
Мелкоочаговые макрофагально-лимфоцитарные инфильтраты перилобулярной перипортальной соединительной ткани и паренхимы печени. Повышенная пролиферативная активность клеток стромы и эпителия междольковых желчных протоков (стрелка). Повышенная концентрация макрофагов (клеток Купфера) в сосудах паренхимы. Умеренное расширение синусоидных капилляров долек. Зернистая дистрофия гепатоцитов. Гематоксилин – эозин. Увеличение X 400.

Рисунок 15 - Модель хронического гепатита с последующим лечением «медиаторами» на 30-е сутки опыта (доза 0,1мл/кг)



Относительно сохранная структура печеночных балок. Отсутствие лейкоцитарной инфильтрации. Полиморфизм ядер и зернистая дистрофия гепатоцитов. Умеренное расширение синусоидов. Гематоксилин – эозин. Увеличение X 400.

Рисунок 16 - Морфологические изменения печени крысы с хроническим гепатитом при лечении "медиаторами" на 30-е сутки опыта (доза 0,1мл/кг).



Отсутствие воспалительной реакции в печени. Участок с относительно нормальной структурой балок и гепатоцитов. Гематоксилин – эозин. Увеличение X 100.

Рисунок 17 - Морфологические изменения печени крыс с хроническим гепатитом при лечении "медиаторами" (доза 0,1мл/кг, 30-е сутки опыта).

Наконец в экспериментальной группе животных, у которых за час до моделирования хронического гепатита и в последующем проводили лечение "медиаторными веществами" фетальных клеток в дозе 0,1мл/кг 3 раза в неделю в течение 30-и суток наблюдались значительные положительные сдвиги в сторону уменьшения воспалительных и дистрофических изменений в печеночной ткани.

В большей части препаратов наблюдалась относительно сохранная структура печеночных балок, повышенная пролиферативная активность клеток стромы и эпителия междольковых желчных протоков, умеренное расширение синусоидных капилляров долек. Сохранилась зернистая дистрофия гепатоцитов (рисунок 15, 17). Данная картина являлась признаком значительной положительной динамики. Полиморфизм ядер и зернистая дистрофия гепатоцитов, повышенная пролиферативная активность клеток стромы и эпителия междольковых желчных протоков служили признаками повышенной регенерации ткани печени (рисунок 16).

В то же время наличие мелкоочаговых макрофагально-лимфоцитарных инфильтратов перилобулярной перипортальной соединительной ткани и паренхимы печени были признаками продолжающегося процесса. Однако в большей части препаратов наблюдалось отсутствие воспалительной реакции в печени, что проявлялось отсутствием лейкоцитарной инфильтрации. Хотя кое-где в сосудах паренхимы сохранялась повышенная концентрация макрофагов (КК) (рисунок 15,16,17).

Таким образом, гепатопротекторное действие медиаторов фетальных клеток при хроническом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом, характеризовалось не только восстановлением функциональных признаков

(маркеров цитолиза и холестаза), но и достоверными морфологическими признаками, то есть уменьшением признаков фиброза и воспаления в печеночной ткани, стимуляцией регенеративных процессов в гепатоцитах.

## Заключение

Проблема развития острых и хронических поражений печени токсинами и лекарственными препаратами является одной из важнейших проблем гепатологии. Токсический гепатит – поражение печени экзогенными, в том числе и промышленными вредностями. Термин «токсический гепатит» употребляется в широком смысле слова, чтобы подчеркнуть токсичность для печени каких-либо внешних агентов [1].

Вещества, вызывающие повреждение печени, по механизму воздействия разделяют на две группы: прямого и непрямого действия. Вещества прямого гепатотоксического действия являются протоплазматическими ядами, повреждающими многие ткани организма, особенно печень. Эффект, вызываемый прямыми гепатотоксинами, прямо зависит от дозы введенного вещества и всегда может быть воспроизведен в экспериментальных условиях. Токсичность этих веществ связана с действием на клеточные мембраны, эндоплазматический ретикулум и мембраны митохондрий. Прямое гепатотоксическое действие оказывает четыреххлористый углерод, вызывающий диффузные массивные некрозы, а также некоторые лекарственные препараты, например, парацетамол. Особенностью токсического поражения печени является высокий риск дальнейшего прогрессирования заболевания, причем число таких заболеваний растет [58].

Острые повреждения печени лекарственными веществами могут быть различными в зависимости от механизма их действия и состояния макроорганизма. При остром токсическом гепатите на первый план выступают явления цитолиза гепатоцитов. Первичные механизмы синдрома цитолиза тесно связаны с нарушением окислительного фосфорилирования, снижением энергопродукции, с последующим изменением функции и структуры клеток [2].

Повышение уровня трансаминаз является наиболее надежным критерием цитолитического процесса. При этом известно, что цитолитический синдром при острых поражениях печени сопровождается более выраженным повышением АЛТ по сравнению с АСТ [131].

В наших исследованиях, посвященных изучению влияния медиаторных веществ фетальных клеток на гепатоциты при острой печеночной недостаточности, токсическое действие парацетамола и его метаболитов на печеночные клетки проявлялось существенным изменением активности ферментов цитолиза. Так, уровень аланинаминотрансферазы на 2-й день эксперимента в контрольной группе нелеченных животных был в 4,6 раз выше, чем у интактных крыс. В то время как уровень аспаргатаминотрансферазы в сыворотке крови контрольных животных, не получавших гепатопротекторной терапии, увеличился в 1,8 раза на 10-е сутки по сравнению с интактной группой.

Внутрибрюшинное введение медиаторов фетальных клеток на фоне моделирования острого гепатита значительно изменяло динамику маркеров цитолиза в сыворотке крови экспериментальных животных. Уже на второй

день эксперимента в группе животных, получавших медиаторы в дозе 0,1 мл/кг, уровень АЛТ составил  $111,46 \pm 30,47$  у/л, что было достоверно ниже показателя нелеченных крыс в 3 раза ( $p_1 < 0,05$ ). В дальнейшем наблюдалось прогрессирующее снижение показателя АЛТ. К 10-му дню исследования уровень активности АЛТ не отличался от интактных крыс. Такая же динамика изменений ферментативной активности АЛТ в сыворотке крови была отмечена и у животных, леченных медиаторами в дозе 0,3 мл/кг.

Использование медиаторов в дозах 0,3 и 0,5 мл/кг привело к повышению уровня АСТ в сравнении с контрольными группами соответственно в 2,2 и 1,6 раза ( $p_1 < 0,01$ ) в начале эксперимента. Однако на последующих этапах в обеих группах была выявлена тенденция к снижению данного показателя и к 10-му дню наблюдения он уже не отличался от уровня интактной группы. В группе животных, которых лечили наименьшей дозой медиаторов 0,1 мл/кг, во все дни эксперимента показатель АСТ не отличался от такового в группе интактных животных.

Применение на фоне острого экспериментального гепатита препарата сравнения - известного гепатопротектора эссенциале способствовало восстановлению уровня АЛТ в сыворотке крови экспериментальных крыс до показателя интактной группы на 2-е сутки эксперимента. В то же время использование препарата сравнения - эссенциале не оказывало влияния на рост уровня активности АСТ в сыворотке крови животных опытной группы с острым токсическим поражением печени. Динамика изменений изучаемого показателя была аналогична с группой нелеченных животных.

При острых поражениях чувствительным показателем цитолитического процесса в печени является тимоловая проба. Экспериментальный острый гепатит сопровождался увеличением значений тимоловой пробы в 1,5 раза уже на 2-й день исследования. В дальнейшем на 5-е и 10-е дни опыта наблюдался еще больший рост данного показателя, когда он превысил уровень интактной группы в 3,9 раза и составил  $3,79 \pm 3,3$  и  $3,45 \pm 0,7$  ед соответственно ( $p < 0,05$  и  $p < 0,001$ ).

Применение медиаторов во всех трех дозовых режимах способствовало значительному сдерживанию роста показателя тимоловой пробы. По-видимому, достаточно выраженный гепатопротекторный эффект медиаторов фетальных клеток объясняется тем, что данные препараты вызывают нормализацию метаболических процессов в организме. Кроме того, они обладают антиоксидантными свойствами, являются иммуномодуляторами, что определяет их основную роль - повышать устойчивость организма к воздействию неблагоприятных эндогенных и экзогенных факторов при различных формах патологии. Препараты фетальной тканевой терапии способствуют созданию в организме наиболее благоприятных условий для проявления его собственных защитных механизмов и компенсаторных возможностей, коррекции метаболических нарушений [32,80,81].

При назначении эссенциале животным с парацетамоловым гепатитом также выявлялась положительная динамика тимоловой пробы, которая была особенно заметной на 5-е и 10-е дни выполнения экспериментов. По-

видимому, в данном случае выраженный гепатопротекторный эффект данного препарата был обусловлен тем, что входящие в его состав полиненасыщенные фосфолипиды оказывают мембраностабилизирующее действие.

Выявленный однонаправленный характер изменений активности трансаминаз крови и тимоловой пробы в опытных группах животных с острым гепатитом, для лечения которых использовали эссенциале и «медиаторные вещества» фетальных клеток, позволяет сделать предположение о том, что «медиаторные вещества», вероятно, также обладают антицитолитическими свойствами. Причем при использовании «медиаторных веществ» фетальных клеток в дозах 0,1мл/кг и 0,3 мл/кг этот эффект был более выраженным, чем у эссенциале.

В контрольной группе животных, подвергнутых токсическому действию парацетамола и его метаболитов на печеночные клетки, наблюдалось выраженное изменение показателей холестаза. Так, содержание билирубина в группе нелеченных животных на 2-й и 5-й день эксперимента превышало показатели интактных животных в 1,3 раза. Однако на 10-й день исследования оно снизилось и было в 1,2 раза ниже показателя интактной группы ( $p < 0,001$ ).

Уровень билирубина в группе сравнения, получавшей на фоне интоксикации парацетамолом эссенциале во все дни эксперимента превышал показатель интактной группы в 1,2 раза.

При лечении больных крыс медиаторами в дозе 0,1мл/кг и 0,3 мл/кг выявлялась такая же динамика изменений в содержании билирубина, как и в группе животных, получавших эссенциале. У животных с острым парацетамоловым гепатитом, леченных медиаторами в дозе 0,5 мл/кг концентрация билирубина достигла показателей интактной группы во 2-й день эксперимента и уже не изменялась в остальные дни исследования.

Еще более выраженные изменения при остром парацетамоловом гепатите наблюдались в показателях активности ГГТП. Если у интактных животных его уровень составил 0,097 у/л, то при остром гепатите на 2-е сутки - 3,086 у/л, на 5-е - 3,84 у/л, а на 10-е сутки - 5,43 у/л, то есть отмечался динамичный рост данного показателя в течение всего эксперимента в 32-56 раз по сравнению с интактными животными.

Уровень щелочной фосфатазы в крови экспериментальных крыс с острым токсическим гепатитом на 2-е сутки эксперимента увеличился, а затем начал снижаться и к 10-м суткам составил  $344,57 \pm 130,5$  у/л в сравнении с  $632,43 \pm 31,97$  у/л.

Применение эссенциале неоднозначно влияло на изменения уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс с экспериментальным гепатитом, для лечения которых использовали эссенциале. Так, на 2-й день эксперимента данный показатель был в 1,3 раза выше, чем у интактных животных, но при этом он не отличался от результатов контрольной группы-2. В дальнейшем уровень активности ЩФ имел тенденцию к падению и на 5-й день уже был ниже, чем в контроле-2. На 10-й день исследования при

сравнении изучаемых показателей различий между 2-й и 3-й группами не обнаруживалось, хотя они в 1,8 раза были ниже, чем у интактных животных.

В группах животных, получавших "медиаторные вещества" фетальных клеток в дозах по 0,1 мл/кг и 0,3 мл/кг уменьшение уровня активности щелочной фосфатазы до значений интактной группы, наблюдалось на 5-й день эксперимента и в дальнейшем исследуемый показатель не изменялся.

Лечение медиаторами во всех дозовых режимах в течение пяти дней способствовало снижению показателя ГГТП в 5-9 раз по сравнению с начальными показателями.

Кроме того, применение медиаторов, особенно в малых и средних дозах, способствовало восстановлению уровней холестерина, триглицеридов и белка. Результаты, полученные в опытных группах, были сопоставимы с показателями группы интактных животных. В связи с чем, появляются основания для того, чтобы говорить о способности медиаторов фетальных клеток в разных дозовых режимах препятствовать синдрому холестаза и восстанавливать синтетическую функцию печени.

Морфологическое изучение печеночной ткани крыс после их эвтаназии в разные сроки эксперимента подтвердили результаты биохимических исследований.

Многочисленными исследованиями установлено, что в терапевтических дозах парацетамол метаболизируется, превращаясь в конъюгаты с глюкуроновой кислотой и сульфатами. При введении высоких доз ксенобиотика происходит изменение процесса его детоксикации: уменьшение образования сульфатированных метаболитов. Избыточные дозы парацетамола ингибируют функции печеночных митохондрий, снижая скорость глюкуронидации, что в конечном счете ведет к увеличению образования токсического продукта (взаимодействие парацетамола с гемопротеинами цитохрома P-450-11-E1), способствующего активации ПОЛ, нарушающего окислительное фосфорилирование в митохондриях, истощающего запасы глутатиона в гепатоцитах [18, 140]. В конечном итоге формируются признаки морфологических повреждений печени.

Так, на 5-е сутки острого токсического гепатита у крыс, вызванного парацетамолом, нами наблюдался массивный периферолобулярный (перипортальный) некроз гепатоцитов, явления «озинофильной дегенерации» клеток по периферии долек и выраженная инфильтрация некротизированных участков полиморфноядерными лейкоцитами. В относительно сохранных участках долек печени был нарушен ход печеночных балок, резко расширены синусоиды. Гепатоциты находились в различных вариантах дистрофических изменений, наблюдались признаки зернистой, гидропической и баллонной дистрофии клеток печени.

Таким образом, введение истинного гепатотоксина парацетамола способствовало, как и предполагалось, развитию острого токсического гепатита со всеми признаками, характеризующими данный процесс.

На 10-е сутки исследования выраженные явления дистрофии и воспаления сохранялись.

Лечение крыс с острым парацетамоловым гепатитом препаратом сравнения эссенциале на 10-е сутки эксперимента способствовало снижению островоспалительного компонента мезенхимальной реакции. В препаратах печени крыс группы сравнения наблюдалось отсутствие полей некроза в печени. При этом обнаруживались участки нарушенного хода печеночных балок, гиперхромия и пикноз ядер части гепатоцитов, находящихся в состоянии зернистой дистрофии. Умеренная диффузная инфильтрация паренхимы печени полиморфноядерными лейкоцитами – краевое стояние нейтрофилов в расширенных синусоидах было характерным для сохранения явлений воспаления с наличием мелкоочаговых перипортальных лейкоцитарных инфильтратов в междольковой соединительной ткани.

Морфологические находки, обнаруживаемые в опытных группах с применением «медиаторных веществ» фетальных клеток в дозе 0,1 мл/кг, показали, что их гепатопротекторный эффект проявляется к 10-м суткам исследования. При микроскопии препаратов данной группы животных наблюдалось отсутствие полей некроза в печени, снижение активности дистрофических изменений гепатоцитов, сохранение лишь зернистой дистрофии и явлений апоптоза. Ход печеночных балок был сохранен, исчезали воспалительные инфильтраты, восстанавливалась относительно нормальная структура печени.

Таким образом, результаты исследований показали, что применение медиаторов фетальных клеток благоприятно влияло на течение токсического парацетамолового гепатита, о чем свидетельствовали нормализация биохимических показателей активности гепатоцитов и восстановление морфологической картины печени.

При этом значительно выраженный гепатопротекторный эффект медиаторных веществ, который превышает эффект эссенциале, вероятно, объясняется тем, что в плацентарных и эмбриональных тканях находится большое количество различных цитокинов, таких как фактор роста фибробластов, фактор, стимулирующий рост макрофагальных и эритроидных колоний, инсулиноподобный и эндотелиоподобный факторы роста, и что особенно важно антипролиферативные цитокины, предотвращающие гиперстимуляцию. Эти вещества являются мощными регуляторами, влияющими на собственные клетки организма реципиента, корректирующими их функциональное состояние и взаимодействие, что во многих случаях способствует восстановлению их нормальной жизнедеятельности [93].

Хроническое течение и прогрессирование воспалительного процесса в печени в настоящее время связывают с включением в патогенез заболевания иммунных процессов и механизмов аутоагрессии. Поражения печени различной этиологии, в том числе и токсические поражения, характеризуются резко выраженным угнетением иммунного ответа, в основе которого лежит дисбаланс функций иммунорегуляторных клеток и действия выделяемых ими цитокинов. Последние оказывают дестабилизирующее влияние на процессы регенерации, гемостаза. Иммуносупрессия при

токсических поражениях печени обусловлена в первую очередь нарушением проницаемости мембран гепатоцитов, выходом в сосудистое русло и образованием в нем многочисленных соединений, обладающих иммуносупрессирующими свойствами.

Кроме того, нарушение структуры и повышение проницаемости клеточных мембран при патологии печени обусловлено также усилением свободно-радикальных процессов, перекисного окисления липидов (ПОЛ) и повышением активности фосфолипаз клеточных мембран.

Хронический гепатит - одно из распространенных заболеваний печени у людей молодого, работоспособного возраста. Несмотря на многочисленные исследования в области диагностики и лечения данной патологии, говорить об успешной излечиваемости при данной патологии на сегодняшний день не приходится. В связи с чем, нами была предпринята попытка экспериментального изучения влияния «медиаторных веществ» фетальных клеток на биохимические и морфологические показатели при хроническом токсическом гепатите. Для проведения данного эксперимента нами была использована модель хронического экспериментального гепатита, где в качестве токсического агента был использован четыреххлористый углерод, вводимый экспериментальным крысам в дозе 0,2мл/100г. Длительность эксперимента составила 45 дней [127].

Четыреххлористый углерод относится к группе хлорированных углеводородов. Данное вещество широко применяется в машиностроении, авиастроении, обувном производстве, для очистки одежды, дегельментизации, дезинсекции и дезинфекции. В экспериментальных условиях четыреххлористый углерод является классическим веществом для моделирования гепатитов, которые проявляются разнообразными биохимическими (изменения уровней маркеров воспаления, цитолиза, холестаза и др) и морфологическими изменениями печени (массивные и субмассивные некрозы паренхимы, жировая или баллонная дистрофия, хронический гепатит [131].

CCl<sub>4</sub> является представителем группы истинных гепатотоксинов прямого действия, который посредством своего физико-химического действия, вызывает непосредственное поражение гепатоцитов, их органелл. В наших опытах токсическое действие CCl<sub>4</sub> на печеночные клетки проявлялось значимым изменением активности ферментов цитолиза (АЛТ, АСТ). Так, уровень аланинаминотрансферазы на 15-й день эксперимента составил 154,85±24,72у/л, что было в 2,2 раза выше, чем в группе интактных животных (p<0,001). После незначительного снижения в середине эксперимента данный показатель к 45 суткам эксперимента вновь повысился и достиг уровня значений, выявленных на 15-е сутки наблюдения.

В группе сравнения у животных, которым вводили до и после моделирования эссенциале, на 30-й день наблюдения происходило существенное увеличение активности АЛТ, которая в 4,6 раза превышала данные, полученные у интактных крыс и составила 310,28±48,86 у/л (p<0,001), После чего уровень АЛТ в группе сравнения снизился до

192,4±56,3 u/l, однако так и не достигнув значений интактной группы. Такая же динамика уровня АЛТ в сыворотке крови наблюдалась и у животных с применением медиаторов в дозе 0,1 мл/кг ( $p < 0,05$ ).

Наиболее благоприятная динамика ферментемии по АЛТ была обнаружена в опытной группе животных с применением «медиаторных веществ» фетальных клеток в дозе 0,3 мл/кг. При этом уровень активности изучаемого фермента раньше, чем в других случаях, стал соответствовать нормативным показателям, выявляемым в группе условно здоровых крыс.

Уровень другого маркера цитолиза, аспаратаминотрансферазы, в контрольной группе нелеченных животных, также имел постоянно меняющуюся динамику во все дни эксперимента. При этом на 15-й день он составил 844,57±116,58 u/l, что было 4,1 раза выше, чем в группе интактных животных ( $p < 0,001$ ). На 30-й день опыта разрыв по изучаемым показателям между двумя контрольными группами несколько снизился. В этот срок ферментативная активность АСТ у нелеченных животных составила 385,43±128,49 u/l. К 45 суткам данный показатель вновь увеличился в 2 раза и составил 782,29±17,37 u/l, то есть стал соответствовать уровню значений на 15-й день исследования (таблица 10).

Лечение экспериментального гепатита эссенциале и медиаторами до 15-х суток эксперимента сдерживало повышение активности АСТ во всех опытных группах на уровне показателей интактной группы. Однако на 30-й день эксперимента у всех животных опытных групп происходило увеличение ферментемии по АСТ, которая превысила изучаемый показатель в контрольных группах интактных и нелеченных крыс. На 45-е сутки эксперимента в группе с применением эссенциале уровень АСТ снизился, но все еще превышал уровень контроля-1 в 1,8 раза. В то время как в группах животных, леченных медиаторами, показатель стал соответствовать значениям интактных животных.

На фоне применения в качестве гепатопротекторов эссенциале и медиаторов фетальных клеток содержание общего белка крови было практически одинаковым и на 30-е сутки не отличалось от интактной группы. У животных, получавших медиатор в дозе 0,3 мл/кг, общий белок продолжал увеличиваться и в дальнейшем, на 45-е сутки наблюдения составил 80,85±5,34 г/л, что оказалось в 1,25 раза больше, чем в контрольных группах.

В контрольной группе животных, у которых вызывали хронический гепатит путем введения крысам ССL<sub>4</sub>, наблюдались значительные изменения содержания билирубина, холестерина и активности ГГТП. Так, начиная с 15-х по 30-е сутки исследования, уровень билирубинемии оказался резко сниженным. Однако на 45-й день эксперимента произошло нарастание билирубина до уровня интактной группы.

В отличие от контрольной группы применение медиаторов в дозе 0,1 мл/кг способствовало снижению темпов падения уровня билирубина при хроническом гепатите во все дни эксперимента. При введении медиаторов в дозе 0,3 мл/кг содержание билирубина сыворотки крови сохранялось на уровне близком таковому в интактной группе. В то же время использование

эссенциале в качестве гепатопротекторного средства показало результаты, близкие результатам в контроле-2, то есть практически не влияло на динамику уровня билирубина у крыс с хроническим гепатитом.

Изучение динамики изменений холестерина в сыворотке крови экспериментальных крыс с хроническим гепатитом показало, что после незначительного снижения на 15-е сутки он вырос в 4 раза на 30-е сутки и оставался на этом уровне до конца эксперимента, составив  $5,28 \pm 0,49$  ммоль/л (рисунок 9).

Несмотря на проведение гепатопротекторной терапии путем применения эссенциале концентрация холестерина во все сроки наблюдения превышала значения интактной группы животных. Различия состояли лишь в том, что увеличение данного показателя было отмечено не на 30-е сутки, а на 15-е сутки после моделирования хронического гепатита. Причем к концу эксперимента содержание холестерина составляло  $6,20 \pm 1,33$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ) (рисунок 5).

При использовании для лечения хронического токсического гепатита медиаторов в дозе 0,1 мл/кг и 0,3 мл/кг содержание холестерина не претерпело существенных изменений в течение 1,5 месяцев наблюдения за животными. Тем не менее оно было достоверно ниже, чем контроле-2 ( $p < 0,001$ ).

Результаты опытов свидетельствовали о том, что моделирование у крыс хронического токсического гепатита сопровождалось увеличением уровня ГГТП в сыворотке крови на 15-е сутки - в 2,8 раза, на 30-е сутки - в 4 раза и на 45-е сутки - в 5 раз ( $p < 0,001$ ). Использование в данном случае эссенциале еще более усугубило имеющуюся тенденцию к увеличению активности ГГТП. При измерении данного параметра в сыворотке крови животных группы сравнения наблюдалось увеличение уровня ферментативной активности ГГТП в 6-7 раз во все сроки проводимых исследований.

Данные, полученные в наших опытах, показали, что лечение «медиаторными веществами» фетальных клеток в различных дозовых режимах практически не влияло на характер изменений уровня активности ГГТП. Изучаемые показатели во все дни эксперимента были в 2-3 раза выше, чем у интактных крыс.

Таким образом, анализ результатов данной серии экспериментов показал, что использование медиаторов фетальных клеток при лечении хронического токсического гепатита оказывает позитивное влияние на динамику биохимических показателей крови опытных животных. При этом выявляется совершенно отчетливая картина уменьшения ферментемии по АЛТ и АСТ. В то время как повышение уровня их активности является наиболее надежным и объективным критерием массивного цитолиза. Кроме того, на фоне проведения терапии медиаторами фетальных клеток возникает нормализация показателей холестаза и, в частности, билирубина, холестерина, активности ЩФ.

При воздействии гепатотропных ядов наибольшее значение в развитии поражения имеет механизм непосредственного повреждения паренхимы

печени. Клиническая картина заболевания и характер морфологических изменений, как правило, не зависят от вида токсического вещества, длительности течения заболевания. Хроническое отравление ядами создает благоприятные условия для дальнейших патоморфологических изменений в печени [22].

В нашем эксперименте введение экспериментальным животным ССЛ<sub>4</sub> в течение 30 суток привело к появлению признаков хронического активного гепатита, проявлением которого, наряду с функциональными нарушениями, являются, в первую очередь, выявленные очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты в печени таких животных, а в некоторых участках диффузная лейкоцитарная инфильтрация паренхимы. По литературным данным при хроническом токсическом гепатите первична - воспалительная реакция, а гепатоцеллюлярные повреждения возникают вторично [125].

По нашим данным в сохранных гепатоцитах наблюдались зернистая и гидропическая дистрофия. Сочетание дистрофических процессов в печеночных клетках и воспалительно-пролиферативных в соединительной ткани печени являются, как известно, характеристиками агрессивности хронического гепатита.

Наблюдаемое в препаратах печени контрольной группы расширение внутريدольковых синусоидных капилляров, структурных компонентов микроциркуляторного русла печени – это один из признаков токсического поражения печени. Кроме того, структурной перестройке были также подвержены паренхиматозные элементы. Об этом свидетельствовало нарушение хода печеночных балок. Однако ложных долек, характерных для сформированного цирроза не обнаруживалось. Изучение микропрепаратов позволило выявить лишь начальные признаки его образования.

Таким образом, в препаратах печени экспериментальных крыс, подвергавшихся в течение 45 суток токсическому воздействию ССЛ<sub>4</sub> и не получавших никакого консервативного лечения, нами обнаружены явные признаки сформировавшегося хронического активного гепатита, поскольку наличие интенсивной воспалительной реакции свидетельствует об активности хронического гепатита. В то время как развитие фибропластического компонента указывает на возможное прогрессирование хронического агрессивного гепатита в цирроз.

В группе сравнения на фоне применения эссенциале нами обнаружены мелкоочаговые лейкоцитарные (преимущественно состоящие из лимфоцитов, плазмочитов и макрофагов) инфильтраты стромы и паренхимы печени, что было свидетельством сохранения воспалительного процесса в печеночной ткани.

При проведении морфологических исследований были обнаружены изменения, характерные, как для дистрофических изменений, так для усиления регенераторных процессов в печени.

Выявленная морфологическая картина в печени у крыс группы с применением эссенциале показала, что, несмотря на уменьшение воспалительных и дистрофических процессов, в печеночной ткани еще

сохраняются признаки хронического гепатита.

Наконец в экспериментальной группе животных, у которых за час до моделирования хронического гепатита и в последующем проводили лечение медиаторами фетальных клеток в дозе 0,1мл/кг 3 раза в неделю в течение тридцати суток наблюдались значительные положительные сдвиги в сторону уменьшения воспалительных и дистрофических изменений в печеночной ткани.

В большей части препаратов наблюдалась относительно сохранная структура печеночных балок, повышенная пролиферативная активность эпителия междольковых желчных протоков, умеренное расширение синусоидных капилляров долек. Данную картину следует расценивать с позиций выявленной значительной положительной динамики.

В большей части препаратов наблюдалось отсутствие воспалительной реакции в печени, что проявлялось отсутствием лейкоцитарной инфильтрации, хотя в некоторых сосудах паренхимы сохранялась повышенная концентрация макрофагов (КК).

Таким образом, гепатопротекторное действие медиаторов фетальных клеток при хроническом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом, проявлялось не только восстановлением функциональных признаков (маркеров цитолиза и холестаза), но и достоверными морфологическими признаками, которые сопровождалось уменьшением признаков фиброза и воспаления в печеночной ткани, а также стимуляцией регенеративных процессов в гепатоцитах.

Успех лечения хронических поражений печени во многом зависит от стадии развития патологического процесса. Патогенетическая терапия в большинстве случаев возможна в стадии компенсации процесса. К компенсированным поражениям печени относится хронический гепатит без измененных функциональных проб печени.

Так, по данным С.Д. Подымовой (1993) повышение уровней трансаминаз соответствует выраженности регенеративных процессов и воспалительных изменений в ткани печени. Подобные изменения активности ферментов чаще наблюдаются в активной стадии хронического гепатита и при формирующихся циррозах печени [61].

Выявленное нами соответствие между повышением уровней маркеров цитолиза и холестаза и морфологическими признаками активизации хронического поражения печени, с последующим снижением данных показателей у животных, леченных «медиаторными веществами» фетальных клеток, можно считать признаком компенсации хронического гепатита.

Компенсаторные процессы при хронических заболеваниях печени осуществляются за счет регенерации (клеточной и внутриклеточной) паренхиматозных и стромальных элементов и перестройки сосудистого русла печени, что было подтверждено в наших морфологических исследованиях.

Нельзя не отметить двойственного значения регенераторных изменений паренхимы и сосудистой перестройки, характерных для тяжелых форм

гепатита и для цирроза печени. Совершенно необходимый для поддержания функции печени регенераторный процесс является в то же время фактором, приводящим к формированию ложных долек. Образование новых сосудистых анастомозов изменяет ток крови, резко уменьшает кровоснабжение паренхимы, что способствует печеночной недостаточности [86]. У экспериментальных животных, получавших гепатопротекторную терапию медиаторами фетальных клеток, на фоне стимуляции регенерации гепатоцитов мы наблюдали процессы улучшения гемодинамики, уменьшение признаков печеночной недостаточности, что является положительным прогностическим признаком.

Биологические структуры на этапе раннего онтогенеза обладают уникальными свойствами: повышенным пролиферативным потенциалом, сниженной антигенной активностью, богатым содержанием ростовых, антибактериальных и анальгезирующих факторов. Уникальные свойства фетальных клеток определяют широкий спектр патологических состояний, при которых используется клеточная терапия [82].

Представляется важной с медицинской точки зрения способность фетальных клеток тормозить, а в некоторых случаях реверсировать развитие грубоволокнистой соединительной ткани. Такое торможение создает важные дополнительные предпосылки для эффективного восполнения клеточных потерь организма новыми функционально-полноценными клетками. Есть утверждения о том, что при экспериментальном циррозе печени у крыс трансплантация гепатоцитов приводит к росту новой здоровой ткани, компенсируя дефицит объема и функциональной активности поврежденных гепатоцитов реципиента [8].

В литературе предлагаются способы лечения дистрофических поражений печени крыс свежеизолированными эмбриональными гепатоцитами крыс. Имеются данные о стимуляции регенерации пораженной печени путем введения суспензии живых гепатоцитов человека в круглую связку печени [79, 114]. Однако использование в качестве гепатопротекторного средства неклеточных фракций фетальных тканей нами производилось впервые. Достоверные результаты, полученные в ходе опыта, внушают доверие и оптимизм.

По данным О.П. Рябчикова с соавторами (1998), а также исследованиями, проведенными в ННМЦ РК (2004) супернатант фетальных клеток содержит в себе такие пептидные факторы (цитокины), белки и гормоны, как пролактин, лютеинизирующий гормон, прогестерон, эстрадиол, тиреотропный гормон, тироксин, тестостерон, инсулин, кортизол, альфа-фетопротеин, микроглобулин и др.

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению механизмов фиброгенеза, роль цитокинов в регуляции воспалительного процесса и фиброза печени у больных с гепатитами и циррозом печени до конца не выяснена. Остается открытым вопрос о том, возможно ли оценить степень активности воспаления и фиброгенеза в печени на основании определения концентрации цитокинов с различным спектром действия в

сыворотке крови, что, в конечном счете, может способствовать разработке новых подходов к лечению заболеваний печени [148].

В исследованиях А.В.Ягоды с соавторами (2006) установлена ассоциация факторов роста и гистологических изменений в печени, что может быть обусловлено участием данных пептидов в процессах воспаления и печеночного фиброгенеза [95].

Изучение особенностей цитокин-индуцируемых клеточных сигналов позволило выделить основное свойство, присущее данным медиаторам – «плейотропность». Основной смысл этого свойства заключается в том, что один цитокин может индуцировать различные биологические ответы на различных клеточных типах, и множество цитокинов могут проявлять на одном и том же типе клеток сходные эффекты [94].

Поэтому следующим после клеточной трансплантации этапом исследования является изучение факторов роста и цитокинов, управляющих рождением новых клеток, миграцией и созреванием молодых клеток, а также факторов, тормозящих каждый из этих процессов. Если ученые научатся управлять этими процессами, то наши представления о многих заболеваниях и патологических процессах кардинально изменятся. Экспериментальное изучение биологических свойств «медиаторных веществ» фетальных клеток при различных видах острой и хронической патологии является одним из этапов в проведении таких исследований.

#### **Выводы:**

1. "Медиаторные вещества " фетальных клеток при лечении острого и хронического гепатита оказывают гепатопротекторное действие. Внутривенное введение медиаторов фетальных клеток на фоне острого парацетамолового гепатита и хронического токсического гепатита, вызванного четыреххлористым углеродом, способствует снижению маркеров цитолиза (АСТ, АЛТ, тимоловой пробы), а также показателей холестаза (билирубин, холестерин) до уровня показателей интактных животных
2. Предварительное введение «медиаторных веществ» фетальных клеток животным с острым парацетамоловым гепатитом снижает повреждение структуры печени, приводит к уменьшению признаков воспалительных и дистрофических изменений в печеночной ткани в большей степени, чем при хроническом токсическом гепатите.
3. При проведении сравнительного анализа гепатопротекторные свойства медиаторных веществ фетальных клеток оказались более выражены, нежели у эссенциале.
4. "Медиаторные вещества" фетальных клеток оказывают дозозависимый эффект. При остром гепатите наибольшим гепатопротекторным эффектом обладают дозы 0,1 и 0,3 мл/кг, а при хроническом процессе - 0,3 мл/кг.

## Список использованных источников

- 1 Me Laughlin B.E., Tosone C.M., Custer L.M., Mutton C. Overview of Extracorporeal Liver Support System and Clinical Results. *Annals of NY Academy of Sciences*. 1999.875.P 310-326.
- 2 Серов В.В., Лапиш К. Морфологическая диагностика заболеваний печени.- М., Мед, 1989, 336с.
- 3 Накатоми Х. Стволовые клетки как метод лечения //В мире науки.- 2003.-№12.- С.24-28..
- 4 Tiedemann H., Asashima M., Grunz H. Pluripotent cells (stem cells) and their determination and differentiation in early vertebrate embryogenesis //Dev., Growth and Differ.-2001.-43.N5.-С.469-502.
- 5 Bittan Mairi, Wright Nicholas A. Gastrointestinal stem cells //J.Pathol.- 2002.- 197.N4- С.492-509.- Англ.
- 6 Bishop A.E., Butteri Lee D.K. Embrionic stem cells //J. Pathol.-2002.- 197.N4.- С.424-429.- Англ.
- 7 Доскалийев Ж.А., Байгенжин А.К., Мустафин А.Х. и др. Клеточные медиаторы в оптимизации анестезиологического обеспечения хирургии печени, желчных путей и поджелудочной железы //В материалах XII Международной конференции хирургов-гепатологов России и стран СНГ,– Ташкент, сентябрь, 2005. С.162
- 8 Сухих Г.Т., Богданова И.М., Малайцев В.В. Иммунологические аспекты трансплантации фетальных клеток //Бюлл.эксперим.биол. и медицины.-1998.- Т.126. Приложение 1.-С.178-181
- 9 Алиев М.А., Доскалийев Ж.А., Омарова К.П. и др. Первые результаты пересадки эмбриональных гепатоцитов в эксперименте //Казакстан медицина журналы. -2000.-№2. - С.85-88
- 10 Омарова К.П. Патогенетическое обоснование пересадки эмбриональных гепатоцитов при различных формах печеночной недостаточности: автореф. ... докт.мед.наук.- г.Актобе.-2001.38с.
- 11 Ульянова Л.В. Особенности метаболизма печеночной ткани крыс под влиянием трансплантации фетальных гепатоцитов при диффузных поражениях печени: автореф. ... канд.мед.наук.:16.12.2006.- Астана: КазГМА, 2006.-22с.
- 12 Сибиряк С.В., Сергеева С.А. Цитокины и микросомальное окисление //Эксперим.и клин. Фармакология.- 1998.- №5.- С.75-80.
- 13 Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчевыводящих путей: Практич рук.: пер с англ.- М.: Гэотар Мед., 1999.- 864 с.
- 14 Pinzani M., Rombouts K., Colagrande S. Fibrosis in chronic liver diseases: diagnosis and management //J.Hepatol.- 2005.- N42.- P.22-36.
- 15 Ивашкин В.Т., Мамаев С.Н., Лукина Е.А. и др. Особенности иммунного ответа у больных хроническим вирусным гепатитом С //Рос.журн.гастроэнтерол.- 2001.- №1.- С.57-61.
- 16 Венгеровский А.И., Головина Е.Л., Буркова В.Н., Саратиков А.С. Энтеросорбенты усиливают гепатозащитное действие эплира при

- экспериментальном токсическом гепатите //Эксперим.клин. фармакол.- 2001.- №1.- С.46-48.
- 17 Zimmerman H., Isha K. Hepatic injury due to drugs and toxins //Pathology of the liver / Eds. R.N.M. MacSween, P.P. Anthony.- London, New York, 1979.- P.335-386.
  - 18 Венгеровский А.И., Саратиков А.С. Механизмы гепатотоксичности парацетамола//Фармакол. и токсикол.- 1991.-№1.- С.76-80.
  - 19 Левина О.А. и др. «Влияние стимуляции и депрессии макрофагов на развитие острого токсического гепатита у крыс, вызванного парацетамолом» 2003.- том 66- №1 - с. 57-59
  - 20 Mathiesen U., Franzen L., Aselius H. et al. Increased liver echogenicity at ultrasound examination reflects degree of steatosis but not of fibrosis in asymptomatic patients with mild //Dig. Liver Dis.- 2002.- N34.- P.516-522.
  - 21 Sandrin L., Fourquent B., Hasquenoph J. et al Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis //Ultrasound Med. Biol.- 2003.- N29.- P.1705-1713.
  - 22 Логинов А.С., Блок Ю.С. Хронические гепатиты и циррозы печени.-М.- 1987.
  - 23 Мирошников В.М. О стимулирующем действии фетальной сыворотки на регенерацию некоторых тканей //Архив патологии.- 1978.-№6.-С.57-62.
  - 24 Доскалиев Ж.А., Байгенжин А.К., Асабаев А.Ш. и др. Медиаторы фетальных тканей: новые возможности «метаболической реанимации» синдрома полиорганной недостаточности у хирургических больных //В материалах международной конференции «Биотехнология и медицина».- Москва, март, 2006г.
  - 25 Абдукадырова М.А. Прогностические маркеры хронизации вирусного гепатита С //Иммунология.- 2002.- №1.- С.47-54.
  - 26 Журкин А.Т., Фирсов С.Л., Маркова М.В. Влияние интерлейкина-2 на иммунологические и биохимические показатели больных гепатитом С //Эпидемиология и инфекционные болезни.- 2001.- №5.- С.28-31.
  - 27 Пинцани М. Эволюция фиброза печени: от гепатита к циррозу //Рос.журн.гастроэнтерол.- 2002.- №5.- С.4
  - 28 Ягодвик-Тележная Е.Н. Состояние системы интерлейкинов-1 и 2 при вирусных гепатитах. Автореф...к.м.н.- Минск, 1999.
  - 29 Mazur W., Mazurek U., Jurzak M. et al. Short-term changes of serum IL-2 induced by interferon- $\alpha$ -2b in patients with chronic hepatitis C //Med.Sci.Monit 2001/ May; 7 Suppl 1:151 -6
  - 30 Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Иммунология для врача.-СПб.: Гиппократ, 1998 – 156 с.
  - 31 Справочник по иммунотерапии для практического врача. (Под ред. А.С.Симбирцева).- М.: Диалог, 2002.-480 с.
  - 32 Гарбузенко Д.В., Попов Г.К. Механизмы регуляции регенерации

- печени //Рос. журн. гастроэнтерол, гепатол., колопроктол.- 2001.- №1.- С.21-24.
- 33 Кашкин К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность //Клинич. лабор. диагност.- 1998.-№11.- С.21-32.
- 34 Маянский Д.Н. Хроническое воспаление.-М.: Медицина.- 1991.- 272 с.
- 35 Царегородцева Т.М., Серова Т.И., Ильченко Л.Ю. и др. Прогностическое значение цитокинов при хронических заболеваниях органов пищеварения //Мед. иммунология.- 2002.- №2.- С.167-170.
- 36 Черешнев В.А., Гусев Е.И. Иммунология воспаления: роль цитокинов //Мед. иммунология.- 2001.- №3.- С.361-368.
- 37 Medina J., Jones E., Moreno-Otero R. Immunopatogenesis of cholestatic autoimmune liver diseases //Eur. J. Invest.- 2001.- N1.- P.64-71.
- 38 Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы.- СПб., 1992.- 352 с.
- 39 Павленко В.В. Интерлейкин  $-1\beta$  и регенераторная активность слизистой оболочки толстого кишечника при язвенном колите //Рос.журн.гастроэнтер., гепатол., колопроктол.- 2002.- №5.- С.58-62.
- 40 Ishiguro Y. Mucosal proinflammatory cytokine production correlates with endoscopic activity of ulcerative colitis // J.Gastroenterology.- 1999.- N1.- P.66- 74.
- 41 Гейвандова Н.И., Криворучко Ю.Г., Козакова С.А. и др. Экспрессия CD25 в ткани печени и лимфоцитах периферической крови больных хроническим вирусным гепатитом //Рос.журн.гастроэнтер., гепатол., колопроктол.- 2002.- №5.- С.83-87.
- 42 Логинов А.С., Царегородцева Т.М., Зотина М.М. и др. Вирусспецифические антитела и интерферонотерапия при хроническом гепатите С //Тер.архив.- 2001.- №1.- С.52-54.
- 43 Василенко А.М., Захарова Л.А. Цитокины в сочетанной регуляции боли и иммунитета //Успехи совр. биол.- 2000.- №2.-С.174-189.
- 44 Маммаев С.Н., Лукина Е.А., Шульпекова Ю.Щ. и др. Регуляция воспаления и фиброза печени цитокинами при ее хронических поражениях // Клин. и лаборат. диагност.- 2001.- №12.- С.37-39.
- 45 Ковалев И.Е., Мусабаев Э.И., Ахмедова М.Д. Иммунохимическая функциональная система гомеостаза при инфекционной и неинфекционной патологии, Ташкент, 1994.
- 46 Friedman S. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury //J. Biol. Chem.- 2000.- N275.- С.2247-2250.
- 47 McHutchinson J., Blatt L., de Medina M. et al. Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and relationship to

- liver histology //J.gastroenterol. Hepatol.- 2000.- N8.- P.819-821.
- 48 Nakamura t., Ueno T., Sacamoto M. et al Supression of transforming growth factor beta results in upregulation of transcription of regeneration factors after chronic liver injury //J. Hepatol.- 2004.- N6.- P.974-982.
  - 49 Ueno H., Sacamoto T., Nakamura T. et al. A soluble transforming growth factor beta receptor expressed in muscle prevents liver fibrogenesis and dysfunction in rats //Hum. Gene. Ther.- 2000.- N11.- P.33-42.
  - 50 Michalopoulos G., DeFrances M. Liver regeneration //Science.- 1997.- N276.- P.60-66.
  - 51 Murawaki Y., Nishimura Y., Ikuta Y. et al. plasma transforming growth factor-beta 1 concentration in patients with chronic viral hepatitis //J. Gastroenterol. Hepatol.- 1998.- N7.- P.680-684.
  - 52 Panasuik A., Flisiak R., Prokowicz D. Effect of interferon alpha-2b plus ribavirin treatment on selected growth factor in respect to inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C //J. Gastroenterol.- 2005.- N12.- P.1854-1858.
  - 53 Nacy C.F. Tumor necrosis factor alpha: central regulatory cytokine in the induction of macrophage antimicrobial activities //Pathobiology.- 1991.-Vol. 59. –P. 182-184
  - 54 Меерсон Ф.З., Твердохлиб В.П., Никаноров А.А. Предупреждение атерогенных дислипидемий и комплекса метаболических нарушений в печени при эмоционально-болевым шоке //Вопр.мед. химии. - 1988.- №6.-С.105-108
  - 55 Маммаев С.Н., Лукина Е.А., Ивашкин В.Т. и др. Продукция цитокинов у больных хроническим вирусным гепатитом С на фоне терапии интерфероном  $\alpha$  //Клин. и лаборат. диагност.- 2001.- №8.- С.45-47
  - 56 Сокольская Т.А. Комплексная переработка плодов расторопши пятнистой и создание на ее основе препарата «Силимар» //Хим.-фармац.журн.- 2000.- №9.- С.27-30.
  - 57 Бунятян Н.Д., Герасимова О.А., Сахарова Т.С., Яковлева Л.В. Природные антиоксиданты – как гепатопротекторы //Эксперим.клин. фармакол.- 1999. т 62 , №2.- С.64-67.
  - 58 Подымова С.Д. Болезни печени, Мед., Москва. 1984,480 с.
  - 59 Регистрация средств России. РЛС – Энциклопедия лекарств.- 9-е изд. Перераб и доп. Под ред. Г.Л.Вышковский.- М.: РЛС, 2002.- 1504 с.
  - 60 Растительные лекарственные средства/ Под ред.Н.П.Максютинной.- Киев: Здоровье, 1985.- С.85-102.
  - 61 Подымова С.Д. «Болезни печени», Москва, Медицина 1993г 187с
  - 62 Сухомлинов Ю.А., Конопля А.И., Хохлова Л.И. Способ получения средства, обладающего гепатопротекторной активностью //Патент на изобрет. А61К35/78, 1991
  - 63 Оганесян Э.Т., Пархоменко А.Ю., Андреева О.А. и др. Способ

- получения гепатопротекторного и гипохолестеринемического средства.- Патент №2270686. –РН 2004109481/15
- 64 Яремий И.Н., Григорьева Н.Ф. Гепатозащитные свойства экстракта родиолы жидкого //Эксперим.клин. фармакол.- 2002.- №6.- С.57-59.
  - 65 Николаев С.М., Цыренжапов А.В., Самбуева З.Г. и др. Гепатозащитное действие гранул сухого экстракта горечавника бородатого //Эксперим.клин. фармакол.- 2001.- №1.- С.49-52.
  - 66 Лукманова К.А., Танирбергенов Т.Б., Насыров Х.М. и др. Токсикологическое изучение фитопрепарата из экстракта люцерны посевной //Эксперим.клин. фармакол.- 2000.- том 63.- №1.- С.62-65.
  - 67 Грек О.Р., Позднякова С.В., Надев А.П. и др. Эффективность бетулоновой кислоты и ее аланинамидных производных при восстановлении паренхимы печени крыс в постцитостатический период //Эксперим.клин. фармакол.- 2005.- №6.- С.49-51.
  - 68 Абидова С.С., Ишанкулова Г.Ф. Влияние совместного применения кетамина и пропофола на метаболизм липидов и их перекисное окисление в организме белых крыс //Эксперим. и клин.фармакол.- 2004.-№3.-С.45-47
  - 69 Рошин В.И., Султанов В.С. Средство для стимуляции процессов естественной регенерации.- Патент на изобрет. А61К31/765 – 2005.
  - 70 Моругова Т.В., Лазарева Д.Н. Влияние лекарственных средств на свободно-радикальное окисление //Эксперим. и клин.фармакол.- 2000.- №1.- С.71-75.
  - 71 Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия.- М.:Универсум паблишит, 1997,532 с.
  - 72 Alison M.R., Vig P.,Russo F. et al. Hepatic stem cells: from inside and outside? //Cell Prolif.- 2004.- N1.- P.1-21
  - 73 Alison M.R., Poulson R., Forbes S.J. Update on hepatic stem cells //Liver.- 2001.- N6.- P. 367-373.
  - 74 Forbes S.J., Poulson R., Thomas H. Hepatic stem cells //J.Pathol.- 2002.- N4.- P.510-518.
  - 75 Forbes S.J., Poulson R., Wright N.A. et al. Hepatic and renal differentiation from blood-borne stem cells //Gene Ther.- 2002.- N10.- P.625-630.
  - 76 Молдавская А.А., Федорова Н.Н. Современные тенденции в развитии эмбриологии //Морфология.- 2000.- №3.- С.84.
  - 77 Iacob Francois. Le monde des cellules souches: Докл. [Reu de l'Academie des sciences "Cellules et therapie cellulaire". Paris. 25-27 mars, 2002] //Acad.sci., Paris.- 2002.- 325.N10.-С.999-1002.- Фр (Мир стволовых клеток)
  - 78 Мулдашев Э.Р., Муслимов С.А., Нигматуллин Р.Т. Генеративная хирургия на основе трансплантационных технологий аллоплант //Морфология.- 2003.- №2-3.- С.109
  - 79 Темирбулатов В.М., Алсынбаев М.М., Хасанов А.Г. и др.

- Исследование результатов пересадки свежеизолированных эмбриональных гепатоцитов крысам с циррозом печени //Тез. Докладов медунар.симпозиума «Биология клетки в культуре» 2002.- С.894.
- 80 Моисеева Н.Н., Мазур С.П., Оченашко О.В., Петренко А.Ю. Влияние криоконсервированных клеток фетальной печени человека на регенерацию и функции печени крыс после частичной гепатэктомии //Пробл.криобиол.- 2001.- №1.- С.42-47.
- 81 Ланца Р., Розенталь Н. Стволовые клетки: сомнения и надежды //В мире науки.- 2004.-№9. С.55-62.
- 82 Ezzel C. Stem cell showstopper? // Sci. Amer.- 2001.- 285.N6.- С.27.
- 83 Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е. и др. Дифференцировка стромальных стволовых клеток костного мозга в кардиомиоцитоподобные клетки у различных видов млекопитающих //Бюлл.эксперим. биол. и мед.- 2003.-№4.- С.461-465.
- 84 Oniscenko N.A., Krasceninnikov M.E., Rasulov M.F. et al. Experimental models and technological approach for the estimation of therapeutic efficiency of organ dysfunction, by bone marrow-derived mesenchymal stem cells //Int.J. Artif Organs.- 2003.-N7.- P.563.
- 85 Кочеткова Н.Г. Способ коррекции возрастных изменений иммунной системы человека. - Патент на изобрет.- № 226718- А61К37/00 – 2005г.
- 86 Назарова Л.В., Билич Г.Л. Регуляция регенерации //Морфология.- 2000.- №3.- С.87-89.
- 87 Hoch B., Wobus A., Krause E.  $\delta$ -Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II expression pattern in adult mouse heart and cardiogenic differentiation of embryonic stem cells //J.Ctl.Biochem.- 2000.- 79.N2.- С.293-300.- Англ.
- 88 Leung A.K.C., Tong R.W.M., Tang M.K.et al. BRE, a new modulator of TNF- $\alpha$  action, is involved in the regulation of apoptosis in the developing mouse embryo. (BRE, новый иммуномодулятор действия TNF- $\alpha$ , участвует в регуляции апоптоза в развивающемся эмбрионе мыши) //J.Anat.-2000.- 196.-N1.- С.134.- Англ.
- 89 Guo Yong, Xia Guo-Liang, Wang Hai-Bin et al. Влияние рекомбинантного лютропина на развитие (in vitro) ранних эмбрионов мышей //Dongwu xuebao= Acta zool.sin.- 2002.- 48.N6.- С.754-758.- Кит., рез. англ.
- 90 Коновалова Н.П. Парадоксы химиотерапии //Вопросы онкологии.- 1992. № 10.-С. 1115-1162
- 91 Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Молнар Е.М. и др. Иммуноцитотерапия. Новое направление в трансплантации фетальных тканей //Бюлл. экспер. биол. и мед.- 1994.- №4.- С412-415.
- 92 Мирошников В.М. О стимулирующем действии фетальной сыворотки крови на регенерацию некоторых тканей //Архив

- патологии.- 1978.- №6.- С.57-62.
- 93 Берсенева А.В. Трансплантация клеток эмбриональной печени и стволовых клеток костного мозга для коррекции дислипидемии и ранних стадий атерогенеза (экспериментальное исследование).- Автореферат на соиск. уч.ст. к.м.н., Москва 2003 г.- 25 с.
- 94 Ляшенко А.А., Уваров В.Ю. К вопросу о систематизации цитокинов //Успехи соврем. Биол.- 2001.- №6.- С.589-603.
- 95 Ягода А.В., Корой П.В., Гейвандова Н.И. и др. Ростовые факторы и гистологическая картина печени при хроническом вирусном гепатите и циррозе //Клин. Медицина.- 2006.- №8.- С.44-47.
- 96 Романова Е.Б. Неинвазивная оценка стадии фиброза у больных хроническими формами HCV-инфекции с помощью количественного определения инсулиноподобного фактора роста в крови //Изв. высш. учеб.завед.Северо-Кавказ. регион.- 2005.- №5.- С.95-96.
- 97 Батрак С.П. использование эмбриональных тканей в лечебных целях.- Врачебное дело.- 1971.- №10.- С.59-66.
- 98 Гомазков О.А. Функциональная биохимия регуляторных пептидов. М.: Мед., 1993.- 160с.
- 99 Родионов С.Ю., Татьков с.И., Пак Н.А. исследование влияния гомогената куриных эмбрионов на рост и метастазирование саркомы Плиса у крыс //Вопр. онкол. – 1996.- №2.- С.197-199.
- 100 Cardoso E., Valdez G., Comini E. et al. Effect of human AFP on native and in vitro stimulated NIC-activity //Clin.lab.immunol.- 1991.- N34.- P.183-188.
- 101 Colombo M.P., Form G. Cytokine gene transfer in tumor inhibition and tumor therapy: where are now? //Immunol.tuday.—1994.- N15.-P.48-51.
- 102 Fiers W. Tumor necrosis factor. Characterization at the molecular, cellular and in vivo level //FEBS Lett.- 1991.- N2.- P.199-212
- 103 Абелев Г.И. 25 лет изучения  $\alpha$ -фетопротеина //Онтогенез.- №6- С.607-614.
- 104 Родионов С.Ю., Стариков В.В., Мягокоходов В.А. Способ лечения заболеваний, характеризующихся аутоиммунной агрессией.- Патент на изобрет.- № 2137477- А61К31/70 – 2005г
- 105 Серов В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) М., 1981г, 312с.
- 106 Alison M.R., Poulson R., Forbes S.J. Update on hepatic stem cells //Liver.- 2000.- N6.- P.367-373.
- 107 Forbes S.J., Poulson R., Wright N.A. Hepatic and renal differentiation from blood-borne stem cells //Gene Ther.- 2002.- N10.- P.625-630.
- 108 Саркисов Д.С. Пути восстановления цирротически измененной печени. М., 1956г, 156с.
- 109 Данченко О.О., Калитка В.В. Механізми формування системи антиоксидантного захисту в гусей в ембріогенезі та ранньому

- постнатальному періоді //Укр. Біохім. Ж.- 2002.-№4.- С. 120-124.
- 110 Leung A.K.C., Tong R.W.M., Tang M.K. et al. BRE, a new modulator of TNF- $\alpha$  action, is involved in the regulation of apoptosis in the developing of mous embryo //J.Anat.- 2000.- N1.- P.134.
  - 111 Guo Yong, Xia Guo-Liang, Lei-Lei et al. Влияние рекомбинантного лютропина на развитие [in vitro] ранних эмбрионов мышей //Dongwu xuebao.- 2002.- №6.- P.754-758.
  - 112 Малашичева А.Б., Кислякова Т.В., Саватье П., Поспелов В.А. Эмбриональные стволовые клетки не останавливаются при действии повреждающих факторов //Цитология.- 2002.- №7.- С.643-648.
  - 113 Потапова А.А., Малюкова И.В., Прошлякова Е.В., Захарова Л.А. Гипоталамо-гипофизарная система контролирует развитие гуморального иммунного ответа у крыс в пренатальном онтогенезе //Онтогенез.- 2002.- №2.- С.124-129.
  - 114 Чистовой Л.В., Солх М. Опыт применения фетальных тканей человека при лечении детей с хроническим вирусным гепатитом и циррозом печени //В сб. статей под ред. Г.Т.Сухих «Трансплантация фетальных тканей и клеток человека» - М., 1996.- С.84-86.
  - 115 Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Молнар Е.М. и др. Иммуноцитотерапия.Новое направление в трансплантации фетальных тканей //Бюлл.экспер.биол и мед.- 1994.- №4.- С.412-415.
  - 116 Liu Ying, Rao Mahendra S. Transdifferentiation – fact or artifact? //J. Cell.Biochem.- 2003.-88,N1.- С.29-40.- Англ
  - 117 Доскалийев Ж.А., Жетимкаринова А.Д., Джуманиязов Д.З. Медиаторы фетальных тканей в регуляции стресс-лимитирующих антиноцицептивных систем у пациентов высокого анестезиологического риска //Материалы Международной конференции «Проблема безопасности в анестезиологии» – Москва, октябрь, 2005. - С.77.
  - 118 Доскалийев Ж.А., Мустафин А.Х., Жетимкаринова А.Д. и др. Медиаторы фетальных тканей в коррекции послеоперационного дистресс-синдрома взрослых //Материалы I конгресса Евро-Азиатского респираторного общества. – Москва, ноябрь 2005г.
  - 119 Омаров Т.М. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы при трансплантации фетальных тиреоцитов на фоне экспериментального гипотиреоза: дис. ...канд.мед.наук, Алматы, 2006.-101с.
  - 120 Fausto N., Cambell J.S. The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation //Mech Dev.- 2003.- N120.- P.117-130.
  - 121 Saxena R., Theise N.D., Crawford J.M. Microanatomy of the human liver-exploring the hidden interfaces //Hepatology.- 1999.- N30.- P.1339-1340.

- 122 Suzuci A., Nacauchi H., Taniguchi H. In vitro production of functionally mature hepatocytes from prospectively isolated hepatic stem cells //Cell Transplant.- 2003.- N12.- P.469-473.
- 123 Tosh D.,Strain A. Liver stem cells – prospects for clinical use //J. Hepatol.- 2005.- N42.- P. 2973-2982.
- 124 Laurson J., Selden C., Hodgson H.J. Hepatocyte progenitors in man in rodents – multiple pathways, multiple candidates.- J. Exp. Pathol.- 2005.- N86.- P.1-18.
- 125 Подымова С.Д. Хронический гепатит. – Москва., Мед, 1975, 279с.
- 126 Машковский М.Д. Лекарственные средства в 2-х частях 1994., 526с
- 127 Батанов А.Н., Эберт Л.Я. и др. «Влияние трансплантации фетальных тканей на репаративные процессы при экспериментальном циррозе печени» Бюллетень экспер. Биологии и медицины, 2000, том 130, №8
- 128 Пиз Д. «Гистологическая техника в электронной микроскопии» Москва, 1963г, 159с.
- 129 Лили Р. «Гистологическая техника и практическая гистохимия» Москва, 1969г, 645с.
- 130 Экспериментальная патология печени Душанбе, 1976г, 189с.
- 131 Экспериментальная патология печени 1983г, 146с.
- 132 Скакун Н.П., Шманько В.В. Охримович Л.М. Клиническая фармакология гепатопротекторов, Збруч, Тернополь 1995г С. 7-89
- 133 Мадьяр И. Проблема гепатитов (Проблемы гастроэнтерологии), Душанбе, 1985г, Выпуск 6, С. 47-56
- 134 Маргулис М.С., Ерухимов Е.А., Андрейман Л.А. и др. Способ лечения печеночной недостаточности. – Авт. свид. №1113131 – СССР – 1984
- 135 Нахаев В.И., Базиева Ф.Х., Онищенко Н.А. Использование эфферентных и гибридных перфузионных систем в комплексном лечении острой и печеночной недостаточности при вирусном гепатите В //Трансплантология и искусственные органы. - 1997 №3 С.79-84
- 136 Онищенко Н.А., Базиева Ф.Х. Экстракорпоральное подключение систем биоискусственной поддержки печени в комплексном лечении гепатоцеребральной дистрофии //Вестник трансплантологии и искусственных органов – 1999. №1 С.54-59
- 137 Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология – М., 1998 – БЭБ и М – 199с.
- 138 Сторожаков Г.И., Кисляков В.А., Никитин И.Г. и др. Биоплазмперфурия: оценка клинической эффективности у больных с хроническими диффузными заболеваниями печени //Эфферентная терапия – 1997. Т.3. №3 – С.47-50
- 139 Vaquerizo A., Mhoyan A., Kearns-Jonker M., Arnaout W.C.,

- Shackleton C., Busuttill R.W., Demetriou A.A., Cramer D. Characterization of human xenoreactive antibodies in liver failure patients exposed to pig hepatocytes after bioartificial liver treatment: an ex vivo model of pig to human xenotransplantation. *Transplantation*. 1999; 67; 5-18
- 140 Катикова О.Ю. Влияние мексидола на состояние гомеостаза и перекисное окисление липидов при интоксикации парацетамолом // *Эксперим. и клин. фармакол.*- 2002.- №6.- С.53-56.
- 141 Коровина Л.Д., Бобырева Л.Е. Принципы клеточной терапии // *Эмбриональная (клеточная терапия) - метод коррекции нарушенных функций организма* 2006г.
- 142 Ю.М. Лопухин, С.А. Гусев Стволовые клетки: научные возможности, моральные барьеры. <http://vivovoco.rsl.ru>
- 143 Косых А.А. Нарушение обмена коллагеновых белков и белково-полисахаридных компонентов при развитии экспериментального гепатита и цирроза печени // *Эксперим.патология печени.*-1983.-С. 70-77
- 144 Блюгер А.Ф., Карташова О.Я. Моделирование патологических процессов в печени // *Эксперим.патология печени.*-1983.-С. 7-15
- 145 Andreo P.H., Retoldini T., Nagio F. et al. Druginduced hepatitis: diagnosis, clinical sundromes and treatment // *Gastroenterol. Hepatol.*-1999.-Vol. 329. P 862-872.

Отпечатано в типографии  
ТОО «Индиго Принт»

Тираж 1000 экз.

г. Нур-Султан,  
пр-т. Кабанбай батыра 2/2,  
офис 200