

КОРРЕКЦИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ

Г.А. Протасова, Л.В. Шабашева,
В.Б. Попов

ФГУП НИИ гигиены профпатологии
и экологии человека ФМБА России,
188663, Ленинградская обл.,
Всеволожский р-н, г. п. Кузьмоловский,
Российская Федерация

Проведена оценка эффективности использования клеток фетальной печени (КФП) для коррекции острого токсического гепатита, индуцированного CCl_4 . Воздействие CCl_4 в дозе 3000 мг/кг приводило к выраженным центрлобулярным некрозам, гидропической, белковой, углеводной и жировой дистрофиям, сосудистым расстройствам. Изучена динамика морфологических изменений в печени с оценкой роли собственного регенераторного потенциала (с использованием патоморфологических, гистохимических и иммунофлуоресцентных методов исследования). Проведено фенотипирование клеточного материала, выявлена экспрессия энтодермальных и мезодермальных маркеров, характерных для печеночного эпителия, гемопоэтических стволовых клеток и клеток мезенхимы. Через 3 сут. после трансплантации КФП отмечали снижение интенсивности некротических и дистрофических процессов в паренхиме печени, у некоторых животных происходило восстановление трабекулярного строения центральных зон печени, а к 5-7 сут. введение фетальных клеток устраняло у части животных сосудистые нарушения. Полученные результаты могут служить обоснованием для использования клеток фетальной печени при лечении острых токсических гепатитов.

Ключевые слова: острый гепатит, коррекция, фетальные клетки.

Цит: Г.А. Протасова, Л.В. Шабашева, В.Б. Попов. Коррекция токсического поражения печени стволовыми клетками. Токсикологический вестник. 2020; 4: 21-26

Введение. Промышленные токсиканты, природные токсины, лекарственные средства, алкоголь, вирусы и т. п. вызывают разнообразные по механизмам действия и клиническим проявлениям патологические изменения в печени [1, 2]. В мире насчитывается более 2 млрд. человек с различной гепатобилиарной патологией, что в 100 раз превышает распространенность ВИЧ-инфекции. Проблема заболеваний печени токсического генеза приобретает все большую актуальность в связи с высокими темпами развития химической и фармацевтической промышленности, внедрением их продукции во все сферы жизни человека. Среди этиологических факторов риска развития токсических поражений печени особая роль принадлежит нерациональной фармакотерапии. Согласно статистическим данным только от побочных эффектов применения медикаментозных средств в мире ежегодно страдает до 1 млн. человек, причем в 180 тысячах случаев именно негативное побочное действие лекарств является непосредственной причиной летально-

го исхода [3]. Проблема лечения патологии печени до настоящего времени остается до конца нерешенной, т.к. число пациентов с диффузными поражениями печени и исходом в тяжелую печеночную недостаточность увеличивается, и колеблется в пределах от 50 до 70 % [4]. Единственным эффективным методом лечения таких патологий является трансплантация печени [5]. Однако существующий дефицит донорских органов, высокая стоимость трансплантации и быстрое течение патологических процессов при острой печеночной недостаточности не позволяют больным с печеночной патологией получить своевременно необходимую для них помощь. Альтернативой трансплантации печени могут стать новые разрабатываемые перспективные методы лечения, основанные на стимуляции собственных стволовых клеток и применении клеточной терапии, в том числе фетальных стволовых клеток. Эффективность коррекции пораженной печени и ее функционирование главным образом зависят от используемого клеточного материала [6, 7,

Протасова Галина Аркадьевна (Protasova Galina Arkad'evna), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГУП НИИ гигиены профпатологии и экологии человека ФМБА России, GalaSR@mail.ru;
Шабашева Лилия Владимировна (Shabashева Liliya Vladimirovna), старший научный сотрудник ФГУП НИИ гигиены профпатологии и экологии человека ФМБА России, shabash69@gmail.com;
Попов Вадим Борисович (Popov Vadim Borisovich), доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГУП НИИ гигиены профпатологии и экологии человека ФМБА России, vpopovlr@mail.ru

8]. Основными источниками клеток для терапии заболеваний печени являются: дифференцированные гепатоциты, стволовые клетки, полученные из фетальных органов и органов взрослого организма [9, 10], в том числе из костного мозга – мезенхимальные клетки [11, 12]. Наиболее перспективным источником получения гепатоцитов человека являются эмбриональные стволовые клетки и клетки с индуцированной плюрипотентностью [13, 14]. Однако применение клеточной терапии при патологиях печени является сложным многостадийным процессом, требующим детального понимания особенностей дифференцировки и регенерации гепатоцитов.

Целью настоящего исследования являлась оценка эффективности применения суспензии КФП для коррекции острого токсического поражения печени животных.

Материалы и методы исследования. Работа проведена на половозрелых аутбредных СПФ самках крыс, полученных из питомника «Пушино» (г. Пушино, Московская область). Содержание и кормление лабораторных животных производилось в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики» (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н.)

Сформировано четыре группы животных (по 6 животных в группе):

- группа контроля (интактные животные);
- группа позитивного контроля – ПК (животным в/ж вводили CCl_4 в дозе 3000 мг/кг);
- группа животных с введением кондиционированной культуральной среды, (однократное в/ж введение CCl_4 + ежедневное внутрибрюшинное введение культуральной среды (2-3 пассажи мезенхимальных стволовых клеток – МезСК) в объеме 1 мл;
- группа животных с инъекцией КФП (однократное в/ж введение CCl_4 в дозе 3000 мг/кг + однократное в/в введение суспензии КФП в количестве 5 миллионов, в объеме 100 мкл).

Для моделирования острого токсического повреждения печени крысам однократно внутрижелудочно вводили CCl_4 в масляном растворе, в дозе 3000 мг/кг. Животных через 1, 3, 5, 7, 16 сут. после воздействия подвергали эвтаназии с помощью эфира. В качестве контроля использовали интактных животных. Для патоморфологического анализа у животных иссекали печень, которую фиксировали в 10 % формалине, проводку осуществляли в гистологическом процессоре замкнутого цикла Tissue-Tek VIP (Sakura Япония), заливку в парафин проводили на станции парафиновой заливки Tissue – Tek TEC (Sakura Япония), срезы толщиной 4 мкм изготавливали на ротационном микротоме Accu – Cut SRM 200 (Sakura Япония). Гистологические срезы окрашивали азур – эозином, на коллаген по Ван-Гизо-

ну. Для обнаружения жировых включений срезы печени толщиной 8 мкм окрашивали суданом 3 [15].

Получение кондиционированной среды от мезенхимных клеток. Культивирование МезСК проводили в среде ДМЕМ F12 с добавлением 15 % нокаутной сыворотки, 0,1 мМβ-меркаптоэтанола (GIBCO, США, 1 % незаменимых аминокислот, 2 мМ L-глутамина, антибиотики (пенициллин 100 ед/мл, стрептомицин 10 мг/мл), во флаконах покрытых 0,1 % желатиной. Собирали суточную среду с субконфлюента клеток. Среду центрифугировали при 1000 об/мин, отбирали надосадочную жидкость и пропускали через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм. Кондиционированная среда получена после культивирования МезСК в течение 24 ч, среду вводили внутрибрюшинно в объеме 1мл с добавлением фактора роста Vegf в концентрации 100 нг/мл.

Выделение КФП. Клеточную суспензию печени получали из эмбрионов крысы линии Вистар. Ткани печени были выделены из 19-суточных эмбрионов крысы согласно стандартным протоколам [16,17] с модификациями. Для визуализации трансплантированных клеток использовался прижизненный краситель РКН26 (Sigma, США), окрашивающий липиды клеточных мембран.

Иммунофлюоресцентное окрашивание суспензии КФП крыс 19ДР, криосрезов и иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов печени крыс.

Препараты приготавливали из диссоциированных КФП, окраска парафиновых срезов и криосрезов печени проводилась в соответствии с протоколом [18]. В качестве первичных антител использовали: мышинные моноклональные антитела, к овальным клеткам (Oval Cell Marker, OV-6 mouse monoclonal, Santa Cruz Biotechnology, INC), антитела кролика к α-фетопротейну, (*Anti-α-1-Fetoprotein antibody produced in rabbit*, АФП), моноклональные кроличьи антитела к Цитокератину 19 (Rabbit monoclonal AB to Abcam Inc.), мышинные моноклональные антитела к CD 45 (Mouse monoclonal antibody – CD 45, EMD Millipore Corporation) и моноклональные антитела к виментин (purified mouse anti-vimentin, BD Pharmingen, США). В качестве вторичных антител использовали поликлональные козы антитела против мыши, конъюгированные с флуорохромом Alexa Fluor 568 («goat anti-mouse IgG1(y1)», StemCell Technologies), козы антитела против мыши, конъюгированные с флуорохромом Alexa Fluor -488 и против кролика конъюгированные с флуорохромом Alexa Fluor 568 («goat anti-rabbit IgG (H+L)», StemCell Technologies). Полученные препараты анализировали с помощью флуоресцентного полуавтоматического микроскопа «Olympus BX61» (Olympus, Япония) осна-

щенного программой CytoVision (Genetix, Великобритания).

Результаты и обсуждение. Для отработки модели острого токсического повреждения печени проведено несколько серий опытов с различными веществами, обладающими выраженным гепатотропным действием, такими как циклофосфамид, несимметричный диметилгидразин и CCl_4 в различных дозах. В результате проведенных экспериментов был выбран четыреххлористый углерод в дозе 3000 мг/кг, вызывающий выраженные стойкие изменения в паренхиме и строме печени, что позволило применить данную модель для разработки экспериментальных подходов к коррекции острого токсического гепатита.

Первую попытку коррекции токсического гепатита проводили с использованием кондиционированной культуральной среды, полученной при культивировании МезСК мыши. При введении кондиционированной среды гибели подопытных животных не наблюдалось, как и в контрольной группе. В группе позитивного контроля отмечалась гибель 3-х из шести подопытных животных в течение первых суток. По результатам патоморфологических исследований ежедневное введение кондиционированной культуральной среды подопытным животным не повлияло на выраженность и течение патологических процессов в печени во все изученные сроки. В связи с этим в дальнейших экспериментах использовали КФП для коррекции токсического гепатита.

Фенотипическая характеристика суспензии КФП плода крысы 19ДР.

В пренатальном периоде в печени млекопитающих происходят два основных гистогенетических процесса – гепатогенез и гемопоэз, которые оказывают взаимное влияние друг на друга. Основную роль в регуляции этих процессов играет строма фетальной печени, организующая микроокружение для дифференцирующихся печеночных и кроветворных стволовых клеток

[19]. Печеночные стволовые клетки пролиферируют и дифференцируются в гепатоциты и холангиоциты и при трансплантации их крысам с острым токсическим гепатитом способны оказывать непосредственное влияние на процессы регенерации.

Проведен иммунофлуоресцентный анализ (ИФА) мазков клеток фетальной печени, в результате чего была выявлена экспрессия основных маркеров печеночных стволовых клеток – OV6 – поверхностного маркера овальных клеток, альфа-фетопротеина (АФП) – маркера, синтезируемого висцеральной энтодермой желточного мешка и клетками эмбриональной печени, цитокератина 19 – специфического поверхностного маркера билиарных и стволовых печеночных клеток (СК 19), виментина – маркера для идентификации мезенхимы и основного маркера гемопоэтических стволовых клеток – CD 45, рис. 1 А, В, С.

Таким образом, в КФП выявили экспрессию энтодермальных и мезодермальных маркеров, характерных для печеночного эпителия (альфа-фетопротеин, маркера овальных клеток, цитокератина 19), гемопоэтических стволовых клеток (CD 45) и клеток мезенхимы (виментина). Полученный клеточный материал в дальнейшем был использован для коррекции острого токсического поражения печени.

На втором этапе исследования проведены эксперименты по оценке эффективности трансплантации КФП с изучением их роли в обеспечении регенераторных процессов.

Анализ гистологических препаратов печени, через 1 сут. после воздействия CCl_4 выявил выраженные центролобулярные некрозы паренхимы с нарушением трабекулярного строения центральных зон, гидропическую, белковую, углеводную и жировую дистрофию, периваскулярные отеки. Внутривенное введение КФП через 6 ч. после воздействия CCl_4 не повлияло на интенсивность перечисленных патологиче-

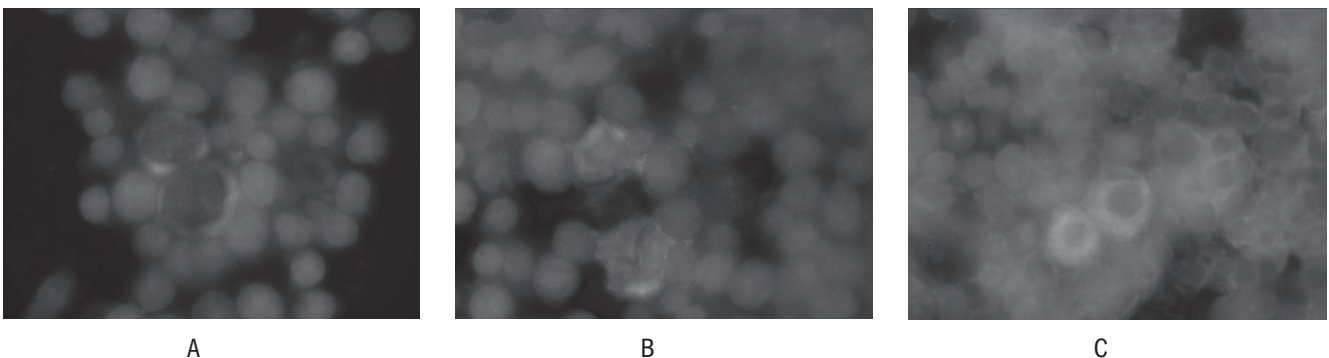


Рис. 1. Иммунофлуоресцентный анализ суспензии клеток фетальной печени. Окраска антителами А – на OV6, В – АФП, С – CD 45. Контраст ядер DAPI, ув x1000.

ских процессов в паренхиме и строме печени.

Структурные изменения через 3 сут. после воздействия CCl_4 в группе позитивного контроля проявлялись участками кровоизлияний в зонах некроза, нарушением трабекулярного строения центральных зон печени, клеточной инфильтрацией, атипичными митозами гепатоцитов, дистрофические изменения паренхимы сохранялись на прежнем уровне. Введение КФП способствовало снижению интенсивности некротических и дистрофических процессов в паренхиме к 3 сут., у некоторых животных после трансплантации КФП происходило восстановление трабекулярного строения центральных зон печени. К 3–5 сут. в центральных зонах печени наблюдалось скопление овальных клеток, что подтверждено ИФА свежемороженых срезов печени, окрашенных на маркер овальных клеток OV6.

При обширных поражениях печени часть овальных клеток способна дифференцироваться в гепатоциты, другая часть развивается по холангиоцитарной линии дифференцировки формируя систему разветвленных протоков, организованных по типу желчного эпителия [20], которые участвуют в образовании холангиол *de novo*, способствуя восстановлению функции печени, что и наблюдалось на 5 сут. после трансплантации КФП (рис. 2 С) и подтверждалось экспрессией специфического поверхностного маркера билиарных клеток – цитокератина 19, рис. 2 В.

Через 5–7 сут. деструктивные изменения паренхимы после воздействия CCl_4 в группе позитивного контроля уменьшались: снижалась интенсивность дистрофических процессов, происходило восстановление трабекулярного строения центральных зон, отмечалось усиление макрофагальной реакции в зонах поражения, однако на этот срок наблюдались выраженные сосудистые повреждения в виде панваскулитов. Трансплантации КФП устраняла у части животных сосудистые нарушения, в паренхиме наблюдались оста-

точные явления жировой дистрофии, но менее выраженные, чем в группе ПК. Число овальных клеток в период с 5 по 7 сут. было максимальным за весь период исследования, что не наблюдалось в группе ПК, это являлось свидетельством их активной пролиферации и участия в процессах регенерации. Дополнительным свидетельством непосредственного участия КФП в регенераторных процессах является присутствие OV6 позитивных клеток в срезах печени, секретирующих АФП (эмбриональный белок), рис 2 А.

К 16 суткам после воздействия CCl_4 в паренхиме печени отмечались явления жировой дистрофии, после коррекции КФП у части подопытных животных отмечалось полное восстановление строения паренхимы и стромы печени. Использование фетальных клеток для коррекции острых токсических гепатитов обусловлено их способностью к репарации, как стромы, так и паренхимы печени за счет непосредственного влияния стволовых клеток, имеющих энтодермальный и мезодермальный фенотипы, а также стромы, являющейся нишей для стволовых клеток. Трансплантированные КФП мигрируют в зоны некрозов и пролиферируют, что подтверждалось присутствием OV6 позитивных клеток на срезах печени, секретирующих эмбриональный белок, и оказывают непосредственное влияние на процессы регенерации. Также нельзя исключить неспецифическое стимулирующее действие КФП на регенераторные процессы в печени за счет пептидов, ростовых факторов, тканевых гормонов, выделяемых прогениторными клетками [21].

Заключение. Настоящее исследование направлено на оценку эффективности применения суспензии КФП для коррекции острого токсического поражения печени взрослых животных с определением роли трансплантированных клеток в обеспечении регенераторных процессов. На первом этапе исследования проведена оценка клеточного фенотипа фетальных клеток.

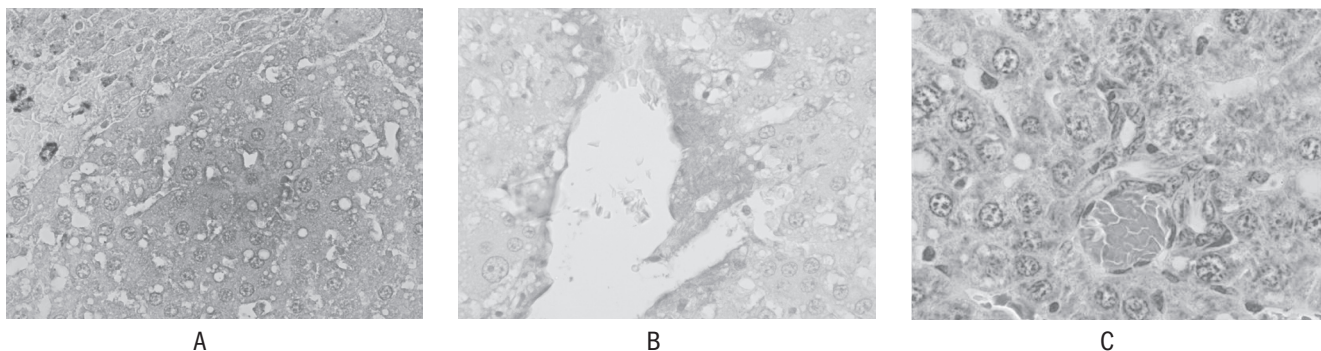


Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание печени, введение клеток фетальной печени, сроки 5 - 7 сут., зоны гепатоцитов, экспрессирующих: А – АФП, ув х 650. В – СК 19, Контраст DAPI, ув х 400, С - холангиолы *de novo*, окр азур-эозин. ув 1000.

ИФА мазков суспензии КФП выявили экспрессию энтодермальных и мезодермальных маркеров, характерных для печеночного эпителия (альфа-фетопротеин, маркера овальных клеток, цитокератина 19), гемопоэтических стволовых клеток (CD 45) и клеток мезенхимы (виментина). В результате проведенных экспериментов, по отработке модели острого токсического повреждения печени, был выбран четыреххлористый углерод в дозе 3000 мг/кг, вызывающий выраженные стойкие изменения в паренхиме и строме печени. Для коррекции острого токсического гепатита использовали кондиционированную среду, полученную при культивировании МезСК мыши. Ежедневное введение кондиционированной среды подопытным животным устраняло гибель животных, однако по результатам патоморфо-

логических исследований кондиционированная среда не повлияла на выраженность и течение патологических процессов в печени во все изученные сроки. Использование КФП приводило к коррекции острого токсического гепатита, так к 3 суткам трансплантация КФП способствовала снижению интенсивности некротических и дистрофических процессов в паренхиме, у некоторых животных происходило восстановление трабекулярного строения центральных зон печени, а к 5-7 суткам внутривенное введение фетальных клеток устраняло у части животных сосудистые нарушения. Полученные результаты могут служить экспериментальным обоснованием возможности использования клеток фетальной печени при лечении острых токсических гепатитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кинзирская Ю.А., Богуш Т.А., Остапчук Н.В., Фисенко В.П. Гепатотоксическое действие лекарственных препаратов некоторых фармакологических групп. Клиническая медицина. 2003; 10: 11-16.
2. Browning J.D. et al. Prevalence of Hepatic Steatosis in an Urban Population in the United States: Impact of Ethnicity. *Hepatology*. 2004; 40 (6): 1387-1395.
3. Чернова В.М. Токсические поражения печени: современные взгляды и подходы к терапии. Острые и неотложные состояния в практике врача. 2011; 2: 26-30.
4. Reuben A., Koch D.G., Lee W.M. Drug-Induced Acute Liver Failure: Results of a U.S. Multicenter, Prospective Study. *Hepatology*. 2010; 52 (6): 2065-2076.
5. Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М. Донорство и трансплантация органов в российской федерации в 2014 году. VII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. 2015; 17 (2): 7-22.
6. Урываева И.В. Стволовые клетки в регенерации печени. В кн.: Пальцев М.А., ред. Биология стволовых клеток и клеточные технологии. т. 2. М.: Медицина; 2009: 211-252.
7. Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология. М.: Российская академия медицинских наук: БЭБ и М.; 1998.
8. Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1998; 126 (1): 3-13.
9. Weiss T.S., Lichtenauer M., Kirchner S., Stock P., Aurich H., Christ B. et al. Hepatic progenitor cells from adult human livers for cell transplantation. *Hepatology*. 2008; 57: 1129-1138.
10. Zhang H., Liu Z., Li R., Wang D., Liu W., Li J. et al. Transplantation of embryonic small hepatocytes induces regeneration of injured liver in adult rat. *Transplantation Proceedings*. 2009; 41 (9): 3887-3892.
11. Люндуп А.В. Применение мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для коррекции фиброзирующего

- повреждения печени: Автореф. дис. канд. мед. наук. М.; 2011.
12. Lee M.J., Jung J., Na K.H. et al. Anti-fibrotic effect of chorionic plate-derived mesenchymal stem cells isolated from human placenta in a rat model of CCl₄-injured liver: potential application to the treatment of hepatic diseases. *Cell Biochemistry*. 2010; 111 (6): 1453-1463.
 13. Rambhatla L., Chiu C.P., Kundu P., Peng Y., Carpenter M.K. Generation of hepatocyte-like cells from human embryonic stem cells. *Cell Transplantation*. 2003; 12 (1): 1-11.
 14. Basma H., Soto-Gutiérrez A., Yannam G.R., Liu L., Ito R., Yamamoto T. et al. Differentiation and transplantation of human embryonic stem cell-derived hepatocytes. *Gastroenterology*. 2009; 136: 990-999.
 15. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. М.: Медицина; 1969.
 16. Freshney R.I. Culture of Animal Cells. In: Freshney R.I. A manual of Basic Techniques. New York: 1995; 39: 184-185.

17. McGrath K., Koninski A., Malik J. et al. Circulation is established in a stepwise pattern in the mammalian embryo. *Blood*. 2003; 101: 1669-1672.
18. Kumar G.L., Rudberk L., ред., Франк Г.А., Малькова П.Г. ред. пер. с англ. Иммуногистохимические методы: Руководство. М.; 2011.
19. Паюшина О.В., Домарацкая Е.И., Старостин В.И. Клеточный состав и регуляторные функции стромы зародышевой печени. *Цитология*. 2012; 54 (5): 369-380.
20. Фактор В.М., Энгельгардт Н.В., Язова А.К. и др. Общие антигены овальных клеток и холангиоцитов мыши: выявление с помощью моноклональных антител. *Онтогенез*. 1990; 21: 625-632.
21. Петракова О.С., Черногло Е.С., Терских В.В., Калистратова Е.Н., Васильев А.В. Использование клеточных технологий в лечении патологий печени. *Acta naturae*. 2012; 3 (14): 18-33.

REFERENCES:

1. Kinzirskaia Yu.A., Bogush T.A., Ostapchuk N.V., Fisenko V.P. Hepatotoxic action of drugs of some pharmacological groups. *Clinical medicine*. 2003; 10: 11-16 (in Russian).
2. Browning J.D. et al. Prevalence of Hepatic Steatosis in an Urban Population in the United States: Impact of Ethnicity. *Hepatology*. 2004; 40 (6): 1387-1395.
3. Chernova V.M. Toxic liver lesions: modern views and approaches to therapy. *Acute and emergency conditions in doctor's practice*. 2011; 2: 26-30 (in Russian).
4. Reuben A., Koch D.G., Lee W.M. Drug-Induced Acute Liver Failure: Results of a U.S. Multicenter, Prospective Study. *Hepatology*. 2010; 52 (6): 2065-2076.
5. Got'e S.V., Moysyuk Ya.G., Khomyakov S.M. Donorship and organ transplantation in the Russian Federation in 2014. VII Statement of the Register of the Russian Transplant Society. *Bulletin of transplant and artificial organs*. 2015; 17 (2): 7-22 (in Russian).
6. Uryvaeva I.V. Stem cells in liver regeneration. In: Pal'tsev M.A., ed. *Biology of stem cell and cell technologies*. vol. 2. Moscow: Meditsina; 2009 (in Russian).
7. Repin V.S., Sukhikh G.T. Medical cell biology. Moscow: Russian Academy of Medical Sciences: BEB & M.; 1998 (in Russian).
8. Sukhikh G.T. Transplantation of fetal cells in medicine: present and future. *Byull. Eksperim. Biol. Med.* 1998; 126 (1): 3-13 (in Russian).
9. Weiss T.S., Lichtenauer M., Kirchner S., Stock P., Aurich H., Christ B. et al. Hepatic progenitor cells from adult human livers for cell transplantation. *Hepatology*. 2008; 57: 1129-1138.
10. Zhang H., Liu Z., Li R., Wang D., Liu W., Li J. et al. Transplantation of embryonic small hepatocytes induces regeneration of injured liver in adult rat. *Transplantation Proceedings*. 2009; 41 (9): 3887-3892.
11. Lyundup A.V. Application of mesenchymal stromal marrow bone cells for correction of fibrosing liver damage. *Cand. med. sci. diss. Moscow*; 2011 (in

- Russian).
12. Lee M.J., Jung J., Na K.H. et al. Anti-fibrotic effect of chorionic plate-derived mesenchymal stem cells isolated from human placenta in a rat model of CCl₄-injured liver: potential application to the treatment of hepatic diseases. *Cell Biochemistry*. 2010; 111 (6): 1453-1463.
 13. Rambhatla L., Chiu C.P., Kundu P., Peng Y., Carpenter M.K. Generation of hepatocyte-like cells from human embryonic stem cells. *Cell Transplantation*. 2003; 12 (1): 1-11.
 14. Basma H., Soto-Gutiérrez A., Yannam G.R., Liu L., Ito R., Yamamoto T. et al. Differentiation and transplantation of human embryonic stem cell-derived hepatocytes. *Gastroenterology*. 2009; 136: 990-999.
 15. Merkulov G.A. Textbook on pathological and histological techniques. Moscow; Medicine; 1969 (in Russian).
 16. Freshney R.I. Culture of Animal Cells. In: A manual of Basic Techniques. New York: 1995; 39: 184-185.
 17. McGrath K., Koninski A., Malik J. et al. Circulation is established in a stepwise pattern in the mammalian embryo. *Blood*. 2003; 101: 1669-1672.
 18. Kumar G.L., Rudberk L. (ed. Frank G.A. and Malkov P.G.). *Immunohistochemical methods: Guide*. Moscow; 2011 (in Russian).
 19. Payushina O.V., Domaratskaya E.I., Starostin V.I. Cellular composition and regulatory functions of the stroma of the germinal liver. *Cytology*. 2012; 54 (5): 369-380 (in Russian).
 20. Faktor V.M., Engel'gardt N.V., Yazova A.K. et al. Common antigens of mouse oval cells and cholangiocytes: detection with monoclonal antibodies. *Ontogenies*. 1990; 21: 625-632 (in Russian).
 21. Petrakova O.S., Cherniogl'o E.S., Terskikh V.V., Kalistratova E.N., Vasil'ev A.V. The use of cellular technologies in the treatment of liver pathologies. *Acta naturae*. 2012; 3 (14): 18-33 (in Russian).

G.A. Protasova, L.V. Shabasheva, V.B. Popov

STEM CELL CORRECTION OF TOXIC LIVER LESIONS

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663, p.o. Kuz'molovsky, Vsevolozhsky District, Leningrad Region, Russian Federation

Assessment of the feasibility of fetal liver cells (FLC) for correction of a CCl_4 -induced acute toxic hepatitis was performed. Exposure to CCl_4 in a dose of 3000 mg/kg caused well-defined centrilobular necrosis, hydropic, protein, carbohydrate, and adipose degeneration, as well as vascular disorders. The dynamics of morphological changes in the liver was studied, and the role of their intrinsic regenerative potential was assessed using pathomorphological, histochemical, and immunofluorescence methods. Phenotyping the cellular material was carried out to reveal expression of endodermal and mesodermal markers characteristic for the hepatic epithelium, hematopoietic stem cells, and mesenchymal cells. Three days after FLC transplantation, slowing down of necrotic and dystrophic processes in the liver parenchyma was observed. In some animals, the trabecular structure of the central hepatic zones was restored and, by 5th to 7th day of post-implantation, vascular disorders were eliminated. The resulting data can be considered as evidence for the use of fetal liver cells in the treatment of acute toxic hepatitis.

Keywords: *acute hepatitis, correction, fetal cells.*

Quote: G.A. Protasova, L.V. Shabasheva, V.B. Popov. Stem cell correction of toxic liver lesions. Toxicological Review. 2020; 4: 21-26

Переработанный материал поступил в редакцию 03.03.2020 г.

