

И. Ю. Маклакова<sup>1, 2</sup>, Д. Ю. Гребнев<sup>1, 2</sup>, В. Ч. Юсупова<sup>1</sup>, Е. М. Петрунина<sup>3</sup>

## ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА MORFOMETРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕЧЕНИ ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

<sup>1</sup> Кафедра патологической физиологии (зав. — д-р мед. наук доц. Д. Ю. Гребнев), ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ; <sup>2</sup> лаборатория антивозрастных технологий (зав. — д-р мед. наук проф. В. Н. Мещанинов), ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; <sup>3</sup> Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии — филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава РФ

**Цель** — изучение влияния трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) на морфометрические показатели печени зрелых и старых лабораторных животных в условиях токсического гепатита.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на зрелых и старых мышах-самцах. Токсический гепатит вызывали путем внутрибрюшинного введения  $CCl_4$  в дозе 50 мг/кг. Трансплантация клеток осуществлялась в хвостовую вену через 1 ч после введения четыреххлористого углерода однократно. Исследовалось влияние ММСК на морфометрические показатели печени в физиологических условиях и условиях токсического гепатита на 1-, 3-, 7-е сутки после трансплантации клеток.

**Результаты.** У зрелых лабораторных животных на 3-и сутки после введения ММСК на фоне токсического гепатита обнаружено увеличение митотической активности, повышение количества гепатоцитов, площади ядра гепатоцитов и ядерно-цитоплазматического индекса. В то же время, у старых лабораторных животных выявлено лишь увеличение площади ядра гепатоцитов и ядерно-цитоплазматического индекса. На 7-е сутки после введения ММСК на фоне токсического гепатита в обеих возрастных группах выявлены активация митотической активности, повышение количества гепатоцитов, увеличение площади ядра гепатоцитов и ядерно-цитоплазматического индекса.

**Выводы.** Изменение морфометрических показателей печени у зрелых и старых лабораторных животных реализуется через механизмы как клеточной, так и внутриклеточной регенерации. При этом у старых лабораторных животных на 3-и сутки после введения ММСК выявлена активация лишь внутриклеточной регенерации, в то время как у зрелых лабораторных животных имеет место повышение клеточной и внутриклеточной регенерации гепатоцитов. В более поздние сроки в обеих изучаемых возрастных группах изменение основных морфометрических показателей печени реализуется через активацию как клеточной, так и внутриклеточной регенерации.

**Ключевые слова:** токсический гепатит, морфометрические показатели печени, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, регенерация, старение

**Введение.** При старении организма регенерация осуществляется на ином, отличном от молодого организма уровне, что может определять существенные различия в выраженности регенераторного ответа в ответ на действие экстремального фактора [2]. В процессе старения развивается генерализованный G1S блок для процессов дифференцировки и пролиферации, нарушающий процессы клеточного самообновления. Одной из возможностей преодолеть такой блок является увеличение в организме клеток, способных к дифференцировке и пролиферации [4, 11, 14].

Накопленный экспериментальный материал свидетельствует о возможности использования биомедицинских клеточных продуктов для активации регенерации печени [6, 8, 10]. Учитывая способность ММСК к выработке фактора роста стволовой клетки (SCF — stem cell factor), который через увеличение количества звездчатых клеток печени Ито обеспечивает увеличение количества гепатоцитов, а также способность ММСК к выработке противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, трансформирующий фактор роста- $\beta$ ), представляется перспективным изучение возможностей активации регенерации

### Сведения об авторах:

Юсупова Виктория Чаукатовна (e-mail: [usupova@mail.ru](mailto:usupova@mail.ru)), кафедра патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 620028 г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

Маклакова Ирина Юрьевна (e-mail: [makliu@mail.ru](mailto:makliu@mail.ru)), Гребнев Дмитрий Юрьевич (e-mail: [dr-grebnev77@mail.ru](mailto:dr-grebnev77@mail.ru)), ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22

Петрунина Екатерина Михайловна (e-mail: [petrunina@mail.ru](mailto:petrunina@mail.ru)), Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии — филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава РФ, г. Екатеринбург, ул. 22 Партсъезда, 50

печени после ее повреждения с использованием данного вида клеток [1, 3, 9].

В то же время, известно, что ММСК, выделенные из плаценты, обладают большей пролиферативной активностью и большим пролиферативным потенциалом по сравнению с ММСК, выделенными из других источников [5, 12].

Способность ММСК к выработке иммуносупрессивных факторов определяет возможность проведения аллогенной трансплантации [13].

Цель исследования — оценка возможностей использования плацентарных ММСК на изменение морфометрических показателей печени зрелых и старых лабораторных животных в условиях токсического гепатита, вызванного введением четыреххлористого углерода. ММСК используются в качестве предполагаемого активатора регенерации печени.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 54 белых зрелых лабораторных мышьях-самцах возраста 7–8 мес массой 25–30 г и 54 старых мышьях-самцах возраста 16–17 мес массой 30–35 г. Производилось выделение культуры ММСК из хориона плаценты 10 лабораторных животных мышьях-самок возраста 3–4 мес массой 22–25 г, срок гестации 14 сут. Все эксперименты, уход и содержание осуществлялись в соответствии с Директивой № 63 от 22 сентября 2010 г. Президиума и Парламента Европы «О защите животных, используемых для научных исследований» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Выполнение исследований одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», протокол № 8 от 20.10.2017 г.

Культивирование ММСК проводилось в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора (Termo Scientific США) при температуре 37 °C с содержанием углекислого газа 5% и влажностью 90%. Для трансплантации лабораторным животным были использованы ММСК третьего пассажа. Идентификация ММСК проводилась иммуноцитохимическим методом с использованием набора Mesenchymal Stem Cell Characterization Kit (Millipore, США), содержащего позитивные (антитела к integrin  $\beta$ 1, CD54, collagen type I и fibronectin) и негативные маркеры (антитела к CD14, CD45). Изучение функциональных свойств выделенных клеток было проведено путем дифференцировки полученной культуры в направлениях, характерных для ММСК — в адипоцитарном и остеогенном. Состав среды, индуцирующей дифференцировку в остеогенном направлении: MesenCult™ Osteogenic Stimulatory Supplement (StemCell Technologies, Канада). Факт остеогенной дифференцировки подтвержден гистохимическим методом регистрации увеличения экспрессии щелочной фосфатазы, а также с помощью окраски von Kossa, выявляющей наличие минерализованного фосфата кальция. Способность клеток дифференцироваться в адипоцитарном направлении подтверждена гистохимическим методом регистрации липидных вакуолей, окрашивающихся красителем Oil Red O. Жизнеспособность клеток была определена с помощью суправитальной окраски раствором трипанового синего и перед трансплантацией составила 95–97%.

Исследовалось влияние ММСК на морфометрические показатели печени в физиологических условиях и в условиях токсического гепатита на 1-, 3-, 7-е сутки после трансплантации клеток. Из опыта животных выводили декапитацией под легким эфирным наркозом.

Подготовку образцов ткани печени для гистологического исследования осуществляли на автоматическом процессоре Leica EG 1160 (Leica, Германия) с последующей заливкой в парафин. Гистологические срезы печени толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилином — эозином. Для морфометрического анализа данных использовали компьютерную программу анализа изображений (Biovision, Россия). С этой целью производили микрофото съемку случайных полей зрения гистологических препаратов цифровой камерой OLYMPUS XC30 на базе микроскопа OLYMPUS BX51 (OLYMPUS, Япония) при увеличении 100, 200, 400, 600, 1000 (не менее 10 полей зрения в каждом гистологическом срезе). Производилась оценка следующих морфометрических показателей печени: количество гепатоцитов на 1 мм<sup>2</sup>, площадь гепатоцитов, площадь ядра гепатоцита, площадь цитоплазмы гепатоцита=площадь гепатоцита–площадь ядра гепатоцита, ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ), количество двухядерных гепатоцитов на 1 мм<sup>2</sup>, митотический индекс (МИ). Ядерно-цитоплазматический индекс определяли как отношение ядра и цитоплазмы клетки. Митотический индекс выражали в промилле (‰).

Исследования проведены на зрелых и старых лабораторных животных. Зрелые лабораторные мышья — возраст 8–9 мес, старые лабораторные животные — 17–19 мес.

Токсический гепатит вызывали путем однократного внутривенного введения CCl<sub>4</sub> (четырёххлористый углерод) в дозе 50 мг/кг. Трансплантация клеток осуществлялась однократно в хвостовую вену через 1 ч после введения четыреххлористого углерода. В каждой возрастной группе были выделены опытная и контрольная подгруппы. Животным опытных подгрупп в хвостовую вену вводились ММСК в дозе 4 млн кл/кг, суспендированные в 0,2 мл 0,9% раствора NaCl, животным контрольных подгрупп вводили 0,9% раствор NaCl 0,2 мл.

У лабораторных животных без токсического гепатита в обеих изучаемых возрастных группах были выделены интактная и опытная подгруппы, которым вводились 0,2 мл 0,9% раствора NaCl и ММСК (4 млн кл/кг, суспендированные в 0,2 мл 0,9% раствора NaCl) соответственно.

Производилось изучение морфометрических показателей печени в физиологических условиях и после моделирования токсического гепатита.

Результаты исследования обработаны статистически с применением непараметрического (рангового) метода Манна—Уитни. Статистическая обработка данных проведена с помощью компьютерной программы SPSS Statistics (версия 17,0).

**Результаты исследования.** При анализе морфометрических показателей печени зрелых и старых лабораторных животных на 1-, 3-, 7-е сутки после введения ММСК в физиологических условиях отличий от данных контрольных подгрупп не обнаружено.

На 1-е сутки после введения четыреххлористого углерода зрелым и старым лабораторным животным на фоне трансплантации ММСК досто-

верных отличий между опытной и контрольной подгруппами не выявлено (табл. 1, 2).

При изучении морфометрических показателей печени зрелых лабораторных животных на 3-и сутки после введения четыреххлористого углерода у животных, которым вводили ММСК, отмечено повышение митотического индекса на 31,6% ( $p < 0,05$ ), увеличение количества гепатоцитов — на 21,7% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной подгруппой. У зрелых лабораторных животных также обнаружено увеличение количества двуядерных гепатоцитов на 36,5% ( $p < 0,05$ ), увеличение площади ядра гепатоцитов на 23,3% ( $p < 0,05$ ), повышение ядерно-цитоплазматического индекса на 38,9% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной подгруппой (рисунок, а).

У старых лабораторных животных количество гепатоцитов и митотический индекс достоверно не изменились по сравнению с данными контрольной подгруппы. Выявлено увеличение площади ядра гепатоцитов на 26,9% ( $p < 0,05$ ), повышение ядерно-цитоплазматического индекса — на 37,8% ( $p < 0,05$ ), увеличение количества двуядерных гепатоцитов — на 27,3% ( $p < 0,05$ )

по сравнению с данными контрольной подгруппы (табл. 3, см. рисунок, б).

При анализе морфометрических показателей печени на 7-е сутки после развития токсического гепатита у зрелых и старых лабораторных животных обнаружены сходные изменения на фоне трансплантации ММСК: увеличение количества гепатоцитов — на 21,9 и 19,9% ( $p < 0,05$ ), увеличение их площади — на 21,3 и 21,9% ( $p < 0,05$ ) и площади ядер гепатоцитов — на 35,5 и 38,3%, ( $p < 0,05$ ) соответственно. Это привело к увеличению ядерно-цитоплазматического индекса у зрелых лабораторных животных на 16,3 и 20,5% у старых ( $p < 0,05$ ). Также на 7-е сутки выявлено повышение митотического индекса на 31,9% и 21,5% ( $p < 0,05$ ) соответственно, увеличение количества двуядерных гепатоцитов по сравнению с контрольными подгруппами — на 21,4 и 33,5% ( $p < 0,05$ ) (табл. 4).

Обсуждение полученных данных. Обнаруженные возрастные особенности механизмов регенерации могут быть связаны с изменениями временных параметров митотического

Таблица 1

## Морфометрические показатели печени у интактных животных

Показатели	Зрелые животные	Старые животные
Количество гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup>	1567,57±55,92	1323,14±82,73
Площадь гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	264,9±6,60	297,10±20,77
Площадь ядра гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	50,57±3,80	57,60±3,97
Площадь цитоплазмы гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	214,33±10,33	239,50±24,74
ЯЦИ	0,24±0,03	0,25±0,04
Количество двуядерных гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup>	233,43±12,2	241,06±7,61
МИ	0,76±0,07	0,40±0,05

Таблица 2

Морфометрические показатели печени у зрелых и старых лабораторных мышей на 1-е сутки после введения СС1<sub>4</sub> (M±m), n=7

Показатели	Зрелые животные		Старые животные	
	NaCl	ММСК	NaCl	ММСК
Количество гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup>	2060,71±92,53 *	2010,0±109,43 *	1475,29±98,61	1441,71±101,76
Площадь гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	186,43±9,38 *	180,79±9,13 *	212,99±13,56 **	223,09±12,67 **
Площадь ядра гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	53,60±3,60	52,29±3,90	61,64±4,26	59,50±5,77
Площадь цитоплазмы гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	132,83±8,85 *	128,50±9,57 *	151,34±14,13 **	163,59±8,53 **
ЯЦИ	0,41±0,04 *	0,41±0,04 *	0,41±0,05 **	0,36±0,02 **
Количество двуядерных гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup>	830,43±52,65 *	807,43±56,65 *	1035,86±49,55 **	1018,00±42,00
МИ	17,74±2,13 *	18,97±1,54 *	7,59±0,50	7,26±0,58 **

\* Отличие от интактной подгруппы зрелых лабораторных животных (зрелые животные без введения СС1<sub>4</sub>) достоверно при  $p < 0,05$ .

\*\* Отличие от интактной подгруппы старых лабораторных животных (старые лабораторные животные без введения СС1<sub>4</sub>) достоверно при  $p < 0,05$ .



Таблица 3

**Морфометрические показатели печени у зрелых и старых лабораторных мышей на 3-и сутки после введения  $CCl_4$  ( $M \pm m$ ),  $n=7$** 

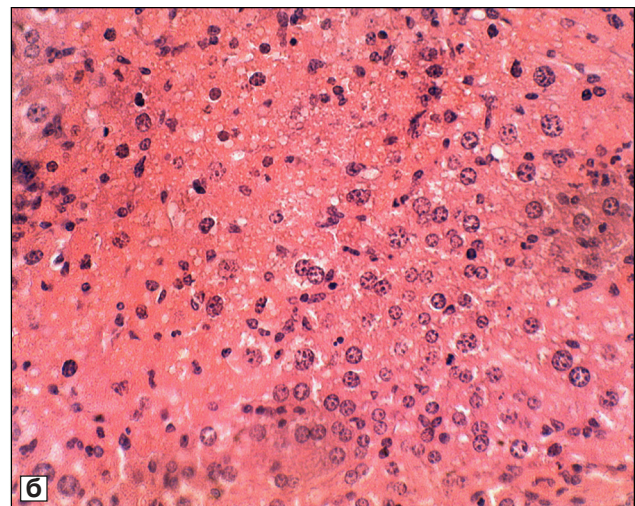
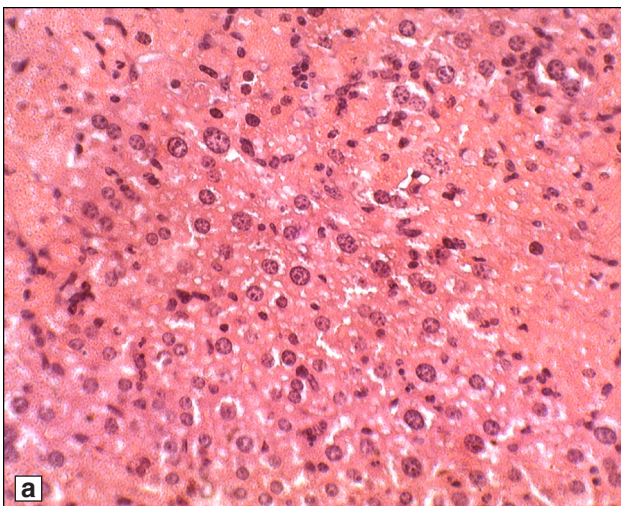
Показатели	Зрелые животные		Старые животные	
	NaCl	ММСК	NaCl	ММСК
Количество гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup>	1902,86±82,69 *	2315,86±83,02 *.**	1431,29±102,04	1476,71±112,04
Площадь гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	203,60±8,46 *	197,59±10,07 *	228,04±8,89 #	235,00±12,23 #
Площадь ядра гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	53,27±2,32	65,70±2,97 *.**	70,54±5,34 #	89,57±6,11 #,##
Площадь цитоплазмы гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	150,33±10,60 *	131,89±9,53 *	157,50±7,63 #	145,43±12,93 #
ЯЦИ	0,36±0,04 *	0,50±0,04 *.**	0,45±0,04 #	0,62±0,08 #,##
Количество двуядерных гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup>	474,43±46,08 *	647,43±51,39 *.**	736,14±56,37 #	937,00±70,29 #,##
МИ	15,20±1,20 *	20,00±2,09 *.**	6,80±0,51 #	6,96±0,45 #

\* Отличие от интактной подгруппы зрелых лабораторных животных (зрелые животные без введения  $CCl_4$ ) достоверно при  $p < 0,05$ .

\*\* Отличие от контрольной подгруппы зрелых лабораторных животных (зрелые лабораторные животные, которым вводили  $CCl_4$ ) достоверно при  $p < 0,05$ .

# Отличие от интактной подгруппы старых лабораторных животных достоверно при  $p < 0,05$ .

## Отличие от контрольной подгруппы старых лабораторных животных достоверно при  $p < 0,05$ .



Печень зрелых (а) и старых лабораторных мышей (б) на 3-и сутки после введения ММСК на фоне токсического гепатита.

Окраска гематоксилином — эозином. Ув. 400

цикла гепатоцитов. Так, в ранее проведенных исследованиях было установлено, что в старом организме отмечается увеличение продолжительности премитотического периода (G2), что определяет более поздний пролиферативный ответ на введение ММСК [2].

В то же время, известно, что при старении происходит снижение чувствительности стволовых клеток к стимулирующим их пролиферацию и дифференцировку факторам роста [4]. С этих позиций можно объяснить более высокую митотическую активность и, как следствие, увеличение количества гепатоцитов у зрелых лабораторных животных по сравнению со старыми.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют об изменении регенерации

печени у зрелых и старых лабораторных животных после трансплантации ММСК в условиях острого гепатита. Репарация печени реализуется через механизмы как клеточной, так и внутриклеточной регенерации. При этом в ранние сроки старые лабораторные животные отвечают на введение ММСК активацией внутриклеточной регенерации, в то время как у зрелых лабораторных животных имеет место повышение клеточной и внутриклеточной регенерации гепатоцитов. На 7-е сутки в обеих изучаемых возрастных группах репарация печени реализуется через активацию как клеточной, так и внутриклеточной регенерации.

**Заключение.** Выявленные количественные и качественные особенности механизмов реге-

Таблица 4

**Морфометрические показатели печени у зрелых и старых лабораторных мышей на 7-е сутки после введения  $CCl_4$  ( $M \pm m$ ),  $n=7$** 

Показатели	Зрелые животные		Старые животные	
	NaCl	ММСК	NaCl	ММСК
Количество гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup>	2048,86±64,73 *	2499,29±61,96 *,**	1408,86±86,45	1689,43±79,06 *,**
Площадь гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	204,71±10,84 *	248,37±6,46 **	225,73±8,08 *	275,29±10,38 **
Площадь ядра гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	60,94±4,68 *	82,56±5,09 *,**	76,80±8,08 *	106,23±8,13 *,**
Площадь цитоплазмы гепатоцитов, мкм <sup>2</sup>	143,77±12,86 *	165,79±6,02 *	148,93±10,90 *	160,86±9,61 *
ЯЦИ	0,43±0,06 *	0,50±0,02 *,**	0,52±0,04 *	0,63±0,04 *,**
Количество двуядерных гепатоцитов на 1 мм <sup>2</sup>	388,57±15,22 *	471,71±20,53 *,**	471,43±30,49 *	629,14±53,80 *,**
МИ	17,06±1,64 *	22,51±1,79 **	7,37±0,40 *	8,96±0,55 *,**

\* Отличие от интактной подгруппы зрелых лабораторных животных достоверно при  $p < 0,05$ .

\*\* Отличие от контрольной подгруппы зрелых лабораторных животных достоверно при  $p < 0,05$ .

нерации печени у старых лабораторных животных можно объяснить изменением хоуминга трансплантированных клеток, т.е. снижением их способности к направленной миграции [7]. Выявленные изменения также могут быть обусловлены снижением образования макроэргических соединений при старении [4].

**Вклад авторов:**

Концепция и дизайн исследования: И. Ю. М., Д. Ю. Г.  
Сбор и обработка материала: И. Ю. М., В. Ч. Ю., Е. М. П.  
Статистическая обработка данных: В. Ч. Ю.  
Анализ и интерпретация данных: И. Ю. М., Е. М. П.  
Написание текста: И. Ю. М., В. Ч. Ю.

**Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.**

## ЛИТЕРАТУРА

- Агаев Б. А., Агаев Р. М., Попандопуло А. Г., Джафарли Р. Э. Экспериментальное исследование аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в лечении цирроза печени // *Гены и клетки*. 2014. Т. IX, № 1. С. 58–63 [Agaev B. A., Agaev R. M., Popandopulo A. G., Dzhafarli R. E. Experimental study of autogenous multipotent mesenchymal stromal cells in hepatic cirrhosis treatment // *Geny i kletki*. 2014. Vol. IX, № 1. P. 58–63. In Russ.].
- Засадкевич Ю. М., Бриллиант А. А., Сазонов С. В. Роль кадгеринов в норме и при развитии рака молочной железы // *Архив патологии*. 2015. Т. 77, № 3. С. 57–64 [Zasadkevich Yu. M., Brilliant A. A., Sazonov S. V. The role of cadherins in the norm and in the development of breast cancer // *Arkhiv patologii*. 2015. Vol. 77, № 3. P. 57–64. In Russ.].
- Калинина Н. И., Сысоева В. Ю., Рубина К. А. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей // *Acta Naturae*. 2011. Т. 3, № 4. С. 32 [Kalinina N. I., Sysoeva V. Yu., Rubina K. A. Mesenchymal stem cells in tissue growth and repair processes // *Acta Naturae*. 2011. Vol. 3, № 4. P. 32. In Russ.].
- Кишкун А. А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 973 с. [Kishkun A. A. Biological age

and aging: possibilities of definition and ways of correction: a guide for doctors. М.: GEOTAR-Media, 2008. 973 p. In Russ.].

- Корсаков И. Н., Еремин И. И., Петрикина А. П., Чаузова Т. С., Гринаковская О. С., Ясиновский М. И., Устинов К. Д., Паклина О. В., Сетдикова Г. Р., Пулин А. А. Сравнительный анализ терапевтической эффективности стромальных клеток, выделенных из различных источников // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018. № 4. С. 104–110 [Korsakov I. N., Eremin I. I., Petrikina A. P., Chazova T. S., Grinakovskaya O. S., Yasinovskij M. I., Ustinov K. D., Paklina O. V., Setdikova G. R., Pulin A. A. Comparative analysis of therapeutic efficacy of stromal cells derived from different sources // *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2018. № 4. P. 104–110. In Russ.].
- Маклакова И. Ю., Гребнев Д. Ю., Ястребов А. П. Влияние экстремальных факторов на хоуминг мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2015. Т. 59, № 4. С. 82–86 [Maklakova I. Yu., Grebnev D. Yu., Yastrebov A. P. The influence of extreme factors on homing of multipotent mesenchymal stromal cells // *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2015. Vol. 59, № 4. P. 82–86. In Russ.].
- Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А. Контроль и регуляция иммунного ответа. Л.: Медицина, 1981. С. 312 [Petrov R. V., Haitov R. M., Man'ko V. M., Mihajlova A. A. Control and regulation of the immune response. L.: Meditsina, 1981. P. 312. In Russ.].
- Сазонов С. В. Т-лимфоциты — регуляторы активности пролиферации клеток в ткани (научный обзор) // *Вестн. Уральск. мед. акад. науки*. 2007. № 1. С. 91–94 [Sazonov S. V. T-lymphocytes regulators of cell proliferation activity in tissue (scientific review) // *Vestnik Ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki*. 2007. № 1. P. 91–94. In Russ.].
- Татарнинова О. С., Осипова Е. Ю., Румянцев С. А. Биологические свойства и возможности клинического использования мезенхимальных стволовых клеток // *Онкогематология*. 2009. № 4. С. 33–44 [Tatarinova O. S., Osipova E. Yu., Rumyanцев S. A. Mesenchymal stem cells biological properties and possibilities of clinical use // *Onkogematologiya*. 2009. № 4. P. 33–44. In Russ.].

10. Федоров В. А. Клеточные технологии в современной медицине // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2009. Т. IV, № 3. С. 15–17 [Fedorov V.A. Cell technologies in modern medicine // Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya. 2009. Vol. IV, № 3. P. 15–17. In Russ.].
11. Timchenko N.A. Aging and liver regeneration // Trends Endocrinol. Metab. 2009. Vol. 20, № 4. P. 171–176.
12. Vieira N.M., Zucconi E., Bueno C.R., Secco M., Suzuki M.F., Bartolini P., Vainzof M., Zatz M. Human Multipotent Mesenchymal Stromal Cells from Distinct Sources Show Different In Vivo Potential to Differentiate into Muscle Cells When Injected in Dystrophic Mice // Stem Cell Rev. Rep. 2010. Vol. 6, № 4. doi: 10.1007/s12015-010-9187-5. 2010
13. Wang Y., Chen X., Cao W., Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications // Nat. Immunol. 2014. Vol. 15, № 11. P. 1009–1016.
14. Wang J., Liao L., Tan J. Mesenchymal-stem-cell-based experimental and clinical trials: Current status and open questions // Expert Opin. Biol. Ther. 2011. Vol. 11, № 7. P. 893–909.

Поступила в редакцию 09.08.2018  
Получена после доработки 29.11.2019

#### THE EFFECT OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS TRANSPLANTATION ON LIVER MORPHOMETRIC PARAMETERS OF MATURE AND OLD LABORATORY ANIMALS WITH TOXIC HEPATITIS

I. Yu. Maklakova<sup>1,2</sup>, D. Yu. Grebnev<sup>1,2</sup>,  
V. Ch. Yusupova<sup>1</sup>, Ye. M. Petrunina<sup>3</sup>

**Objective** — to study the influence of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) transplantation on morphometric parameters of the liver of mature and old laboratory animals with toxic hepatitis.

**Material and methods.** The experiments were performed on mature and old male mice. Toxic hepatitis was caused by intraperitoneal administration of CCl<sub>4</sub> at a dose of 50 μg/kg. The cells were transplanted via the tail vein 1 hour after administration of a single dose of carbon tetrachloride. The effect of MMSC on liver morphometric parameters in physiological conditions and after toxic hepatitis development was studied on days 1, 3, 7 after cell transplantation.

**Results.** An increase in mitotic activity, an increase in the number of hepatocytes, hepatocyte nucleus area, and nuclear cytoplasmic index were found in mature laboratory animals with toxic hepatitis on the 3<sup>rd</sup> day after the introduction of MMSC. At the same time, only an increase in the area of hepatocyte nucleus and nuclear cytoplasmic index was revealed in old laboratory animals. On the 7<sup>th</sup> day after the introduction of MMSC to the animals with toxic hepatitis, both age groups demonstrated activation of mitotic activity, an increase in the number of hepatocytes, an increase in the area of hepatocyte nucleus and nuclear cytoplasmic index.

**Conclusions.** Changes in liver morphometric parameters in mature and old laboratory animals are realized through mechanisms of both cellular and intracellular regeneration. In addition, the activation of only intracellular regeneration was found in old laboratory animals on the 3<sup>rd</sup> day after the introduction of MMSC, while in mature laboratory animals there was an increase in cellular and intracellular regeneration of hepatocytes. In later periods in both studied age groups, the change in the main liver morphometric parameters is realized through the activation of both cellular and intracellular regeneration.

**Key words:** *toxic hepatitis, liver morphometric parameters, multipotent mesenchymal stromal cells, regeneration, aging*

<sup>1</sup> Ural State Medical University, 3 Repina St., Ekaterinburg 620028, Russia; <sup>2</sup> «Institute of Medical Cell Technologies», 22A K. Marksa St., Ekaterinburg 620026, Russia; <sup>3</sup> Ural Research Institute of Phtisiopulmonology, 50 22-go Parts'ezda St., Ekaterinburg 620039, Russia