

## АКТИВАЦІЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦИРОЗОМ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ КЛІТИН ФЕТАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ

О. В. ОЧЕНАШКО<sup>1</sup>, Ю. В. НІКІТЧЕНКО<sup>2</sup>, О. С. ЛЕБЕДИНСЬКИЙ<sup>1</sup>,  
О. М. СУКАЧ<sup>1</sup>, О. Ю. ПЕТРЕНКО<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків;  
<sup>2</sup>НДІ біології Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна, Україна;  
e-mail: ochenashko@ukr.net

Досліджена можливість відновлення антиоксидантної системи організму щурів з експериментальним цирозом печінки (ЦП) після ало- та ксенотрансплантації кріоконсервованих клітин фетальної печінки (КФП). Встановлено, що через 4 тижні після трансплантації КФП рівень продуктів перексидного окислення ліпідів у печінці та крові істотно знижувався порівняно з контрольною групою. Такі зміни супроводжувалися достовірним збільшенням активності каталази, глутатіонредуктази та Se-залежної глутатіонпероксидази печінки та загальної антиокислювальної активності крові.

Результати роботи свідчать про те, що основна спрямованість такої дії КФП збігається з ефектами, які спостерігалися раніше на інших експериментальних моделях (часткова гепатектомія, алкогольне ураження печінки та гіперхолестеролемія), що дозволяє розглядати трансплантацію КФП як універсальний метод корекції порушень регуляції вільнорадикальних процесів при експериментальних патологіях печінки різної етіології.

**Ключові слова:** антиоксидантна система, експериментальний цироз, клітини фетальної печінки, трансплантація.

**Ц**ироз – кінцева стадія багатьох хронічних захворювань печінки, які розвиваються внаслідок тривалої дії низки пошкоджуючих факторів (віруси, токсини, запалення). Морфологічно цироз печінки характеризується значним розростанням сполучної тканини, зниженням кількості гепатоцитів і, як наслідок, нездатністю органа ефективно виконувати специфічні біохімічні функції. Важлива складова формування деструктивних змін у печінці – порушення регуляції перексидних процесів: активація вільнорадикального окислення внаслідок виснаження антиоксидантних систем захисту [1]. Виходячи з цього, сучасні підходи до лікування багатьох хронічних захворювань печінки, в тому числі і цирозу, передбачають введення агентів, які стимулюють регенерацію пошкодженого органа, мають антиоксидантну дію і/або здатність збільшувати активність ендогенної антиоксидантної системи захисту [2, 3].

У цьому аспекті особливу увагу привертає застосування методів клітинної терапії, а саме – трансплантації клітин фетальної печінки (КФП) раннього строку гестації, які являють собою суміш стовбурових та прогеніторних клітин, що містять і продуку-

ють стадіоспецифічні біологічно активні сполуки, здатні позитивно впливати на ушкоджену печінку.

Раніше у нашій лабораторії в умовах алогенної та ксеногенної трансплантації встановлено, що клітини фетальної печінки (КФП) нормалізують стан антиоксидантної системи (АОС) організму тварин з різними експериментальними патологіями [4–6]. Незалежно від моделі, яку використовували в дослідженнях, позитивний ефект дії КФП досягався шляхом впливу на активність антиоксидантної ензиматичної та неензиматичної систем захисту. Наведені результати дозволяють розглядати трансплантацію КФП як можливий метод корекції порушень АОС в організмі тварин із СС<sub>1</sub>-індукованим цирозом, що потребує проведення відповідних експериментів.

З огляду на це, у представленій роботі визначали можливість відновлення АОС організму щурів з експериментальним цирозом печінки (ЦП) після трансплантації КФП людини і щурів.

### Матеріали і методи

В експериментах було використано 50 білих безпородних щурів самців та 5 самиць. Утримання тварин і експериментальні

маніпуляції проводили згідно з вимогами етичного комітету ІПКіК НАНУ, узгоджених із правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних й інших наукових цілях» (Страсбург, 1985). Всі хірургічні операції на тваринах, а також декапітацію, проводили під інгаляційним ефірним наркозом.

Клітини для трансплантації виділяли з фетальної печінки людини та щурів. З цією метою використовували фрагменти фетальної печінки людини 10–12 тижнів, що були одержані після штучного переривання вагітності з письмової згоди проінформованих донорів згідно з рекомендаціями Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації із проведення біомедичних досліджень. Суспензії КФП людини одержували неензиматичним методом у стерильних умовах [7].

Клітини печінки із плодів щурів 15–16 діб гестації (виявлення спермій в мазках після підсадки самиць до самців вважали першим днем вагітності) виділяли комбінованим ензиматично-механічним методом із метою збільшення виходу клітин. Тканини печінки обробляли 0,25%-им розчином трипсину в 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) протягом 5 хв при 20 °С. Після цього їх механічно дезінтегрували на одиночні клітини та фільтрували у стерильних умовах, як описано вище [7].

Кріоконсервування КФП проводили під захистом 10%-го ДМСО. Клітинні суспензії відігрівали безпосередньо перед введенням. Показник життєздатності (тест за виключенням барвника трипанового синього) для кріоконсервованих клітин фетальної печінки людини становив  $68 \pm 6\%$ , для клітин фетальної печінки щурів –  $70 \pm 5\%$ .

Хронічне токсичне ушкодження печінки (експериментальний цироз) формували у щурів, починаючи з 7–8-місячного віку, шляхом внутрішньочеревинних ін'єкцій 50%-го олійного розчину тетрахлорметану (0,1–0,2 мл/100 г маси тіла) протягом 3 місяців 2 рази на тиждень [8].

КФП вводили в селезінку щурів через 10 діб після завершення ін'єкцій тетрахлорметану. Контрольній групі тварин вводили еквівалентний об'єм середовища консервування. Після проведення маніпуляції розріз зашивали та обробляли рану антисептиком.

Всього було сформовано 4 групи експериментальних тварин:

1. Інтактні тварини, яких утримували у стандартних умовах віварію протягом всього експерименту – норма ( $n = 8$ ).

2. Щури з експериментальним цирозом печінки, яким у селезінку вводили 0,2 мл середовища кріоконсервування – контроль ( $n = 8$ ).

3. Щури з експериментальним цирозом печінки, яким у селезінку вводили  $10^7$  КФП людини в об'ємі 0,2 мл – КФПл ( $n = 10$ ).

4. Щури з експериментальним цирозом печінки, яким у селезінку вводили  $10^7$  КФП щурів в об'ємі 0,2 мл – КФПщ ( $n = 10$ ).

Термін спостереження після трансплантації – 4 тижні. Тварин виводили з експерименту декапітацією. Кров збирали з декапітаційної рани і використовували для одержання сироватки, в якій визначали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), вміст білірубину і альбуміну, використовуючи стандартні біохімічні набори (Biolatest, Pliva-Lachema).

Печінку вилучали, охолоджували і виділяли постмітохондріальну фракцію (ПМХ, 10 000 г) шляхом диференціального центрифугування.

Вимірювання вмісту ТБК-активних продуктів у ПМХ фракції печінки проводили методом Ohkawa et al. [9], а у сироватці крові – методом Asakawa et al. [10]. Вміст ТБК-активних продуктів розраховували в еквівалентній кількості малонового діальдегіду (МДА), приймаючи коефіцієнт молярної екстинкції рівним  $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Антиокислювальну активність сироватки крові визначали за її здатністю гальмувати накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ у суспензії жовткових ліпопротеїдів, як описано в [11]. АОА сироватки крові виражали у процентах інгібування окислення жовткових ліпопротеїдів.

Активність Se-залежної глутатіонпероксидази (ГП, КФ 1.11.1.9) у ПМХ-фракції печінки і сироватці крові вимірювали спектрофотометрично [12] у середовищі, що містить 50 мМ  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  – фосфатний буфер (рН 7,4), 1 мМ EDTA, 0,15 мМ NADPH, 1 мМ GSH, 0,8 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 0,5 од/мл глутатіонредуктази дріжджів і 3 мМ азиду натрію (для інгібування каталази), при 37 °С. Активність виражали у нмоль NADPH/хв на 1 мг протеїну або на 1 мл плазми, приймаючи, що коефіцієнт екстинкції дорівнює  $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Активність глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.6.4.2) в ПМХ-фракції печінки визначали спектрофотометрично за зменшенням вмісту NADPH [13] у середовищі, що містить 50 мМ  $\text{K}^+$  фосфатний буфер (рН 7,4), 1 мМ EDTA, 0,16 мМ NADPH, 1 мМ GSSG при 37 °С. Активність виражали в нмоль NADPH/хв на

1 мг протеїну, приймаючи, що коефіцієнт екстинкції дорівнює  $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Активність супероксиддисмутази (СОД, К.Ф. 1.15.1.1) вимірювали у ПМХ фракції печінки спектрофотометрично методом [14], який полягає у визначенні ступеня інгібування реакції відновлення нітротетразолію синього супероксидними радикалами, які генеруються з певною швидкістю у ксантин-ксантинооксидазній системі. Активність СОД вимірювали у середовищі, яке містить 50 мМ  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ -фосфатний буфер (рН 7,8), 50 мМ  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 0,1 мМ EDTA, 25 мкМ нітротетразолію синього, 0,1 мМ ксантину, 0,003 од./мл ксантинооксидази. За одиницю активності СОД приймали 50%-не інгібування швидкості відновлення нітротетразолію синього при 37 °С, яке реєстрували при 560 нм. Активність СОД розраховували в одиницях активності на 1 мг протеїну.

Визначення активності каталази (КАТ, 1.11.1.6) у ПМХ-фракції печінки проводили спектрофотометрично при 240 нм [15] в 10 мМ  $\text{K}^+$ -фосфатному буфері (рН 7,4), який містив 0,1 мМ EDTA та 15 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ , при 37 °С. Активність виражали у мкмоль  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв}$  на 1 мг протеїну, приймаючи коефіцієнт молярної екстинкції для  $\text{H}_2\text{O}_2$   $39,4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Визначення вмісту протеїну в гомогенаті печінки проводили методом Лоурі в модифікації Міллера [16].

Одержані результати обробляли статистично за допомогою комп'ютерного пакета програм Statistika V.6 з використанням *t*-критерію Стьюдента. Вірогідно різними вважали результати за  $P < 0,05$ .

### Результати та обговорення

У процесі формування експериментальної хронічної патології печінки загинуло 31% тварин, що свідчить про адекватність обраних умов формування моделі. Введення тетрахлорметану протягом 3 міс призводило до розвитку хронічної патології печінки, що за морфологічними [8] та біохімічними даними відповідала цирозу печінки. Згідно з одержаними даними, у сироватці крові тварин рівень білірубину підвищувався у 3 рази ( $8,92 \pm 1,54$  мкмоль/л,  $P < 0,05$ ), активність ЛДГ у 2,3 рази ( $504 \pm 36$  од./л,  $P < 0,05$ ), а вміст альбуміну знижувався на 24% ( $27,1 \pm 0,9$  г/л,  $P < 0,05$ ) порівняно з відповідними показниками у тварин групи «норма».

Спостереження за тваринами після трансплантації показало, що повне загоєння післяопераційної рани відбувається поступо-

во в усіх групах протягом 1–2 тижнів після хірургічного втручання, і суттєво не залежить від характеру введеного матеріалу. При цьому загинув шурів спостерігалася в усіх групах. У контрольній групі через 4 тижні вижило 77% тварин. При цьому, якщо введення КФП шурів несуттєво впливало на цей показник, який дорівнював 80%, то введення КФП людини вірогідно ( $P < 0,05$ ) збільшувало виживання до 91%.

Дослідження біохімічних показників крові через 4 тижні після введення середовища кріоконсервування (контроль) показало, що вміст альбуміну залишається зниженим на 27%, рівень білірубину і активність ЛДГ збільшуються у 3,7 і 2,5 рази порівняно з відповідними показниками тварин групи «норма» (табл. 1). Введення КФП людини та шурів приводить до покращення досліджуваних параметрів. Через 4 тижні після алотрансплантації КФП шурів у сироватці крові тварин вірогідно знижується рівень білірубину в 1,5 рази, збільшується вміст альбуміну в 1,1 рази і знижується активність ЛДГ у 1,5 рази порівняно з відповідними показниками контрольних тварин. Схожим чином змінюються показники після введення КФП людини, але вміст білірубину не досягає вірогідної різниці з контролем, а лише має тенденцію до зниження ( $P = 0,08$ ). Слід зазначити, що нормалізації досліджуваних показників у цей період не відбувається.

Дослідження стану прооксидантно-антиоксидантного балансу крові шурів з ЦП виявило наступні зміни. Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у сироватці крові тварин контрольної групи через 4 тижні після введення середовища кріоконсервування практично в 2 рази вище, ніж у нормі (рис. 1, А). При цьому АОА крові, яка є інтегральним показником стану неензиматичної системи і відображає рівень природних антиоксидантів у тканині, знижується в 2,7 рази (рис. 1, Б).

Введення КФП людини та КФП шурів приводить до вірогідного зниження ТБК-активних продуктів у сироватці крові в 1,3 та 1,4 рази (рис. 1, А) та до збільшення антиокислювальної активності в 1,6 та 2,1 рази відповідно (рис. 1, Б), але при цьому досліджувані показники не досягають рівня у нормі.

У сироватці крові контрольних тварин активність ГП-ензиму, який відповідає за відновлення гідропероксидів, знижується в 1,9 рази (рис. 1, В) порівняно з тваринами групи «норма». Введення КФП шурів та людини суттєво не впливає на активність досліджуваного ензиму.

Таблиця 1. Біохімічні показники сироватки крові щурів з експериментальним цирозом печінки через 4 тижні після трансплантації КФП (n = 6–8)

Показник	Умови досліджу			
	Норма	Контроль	КФПл	КФПщ
Загальний білірубін, мкмоль/л	2,37 ± 0,71	8,79 ± 0,78*	6,91 ± 0,59*	5,95 ± 0,91*,&
Альбумін, г/л	35,6 ± 0,7	25,8 ± 0,9*	28,5 ± 0,9*,&	29,08 ± 1,30*,&
Лактатдегідрогеназа, од./л	217 ± 24	522 ± 66*	360 ± 58*,&	347 ± 49*,&

Тут і в табл. 2: \*вірогідно порівняно з відповідним показником у тварин групи «норма» (P < 0,05); &вірогідно порівняно з відповідним показником у контрольній групі (P < 0,05)

Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у ПМХ фракції печінки через 4 тижні після введення середовища кріоконсервування був майже у 5 разів більшим, ніж у нормі (рис. 2). Трансплантація КФП щурів та людини суттєво знижує вміст продуктів ПОЛ у печінці: у 3,2 та

3,5 раза порівняно з контролем, але при цьому показник повністю не досягає норми.

Вивчення стану ензиматичної антиоксидантної системи печінки показало, що у тварин контрольної групи через 4 тижні після введення середовища кріоконсервування

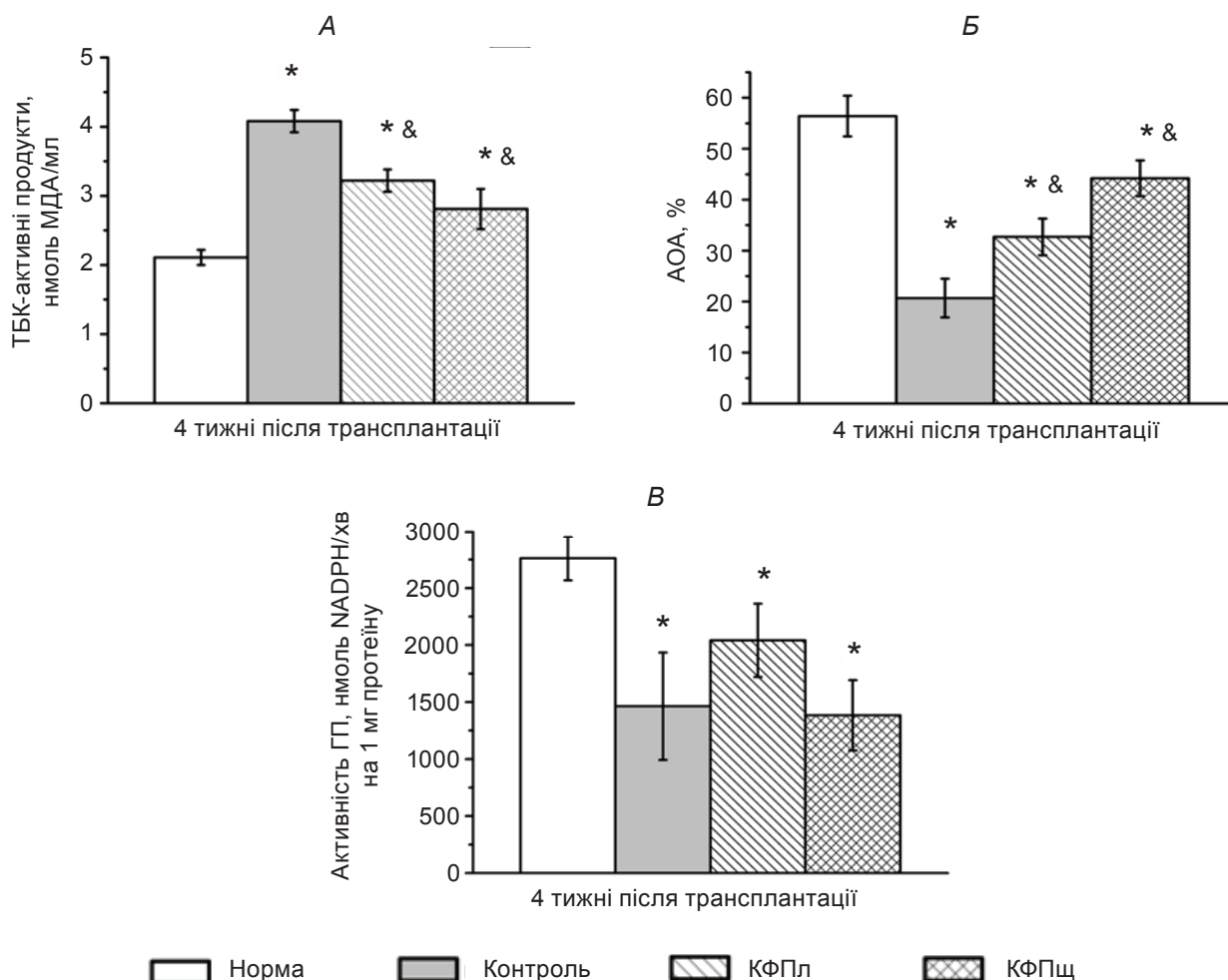


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ (А), антиокислювальна (Б) та глутатіонпероксидазна активність (В) сироватки крові щурів з експериментальним цирозом через 4 тижні після введення КФП щурів та людини (n = 5); \* вірогідно порівняно з відповідним показником у тварин групи «норма» (P < 0,05); & вірогідно порівняно з відповідним показником у контрольній групі (P < 0,05)

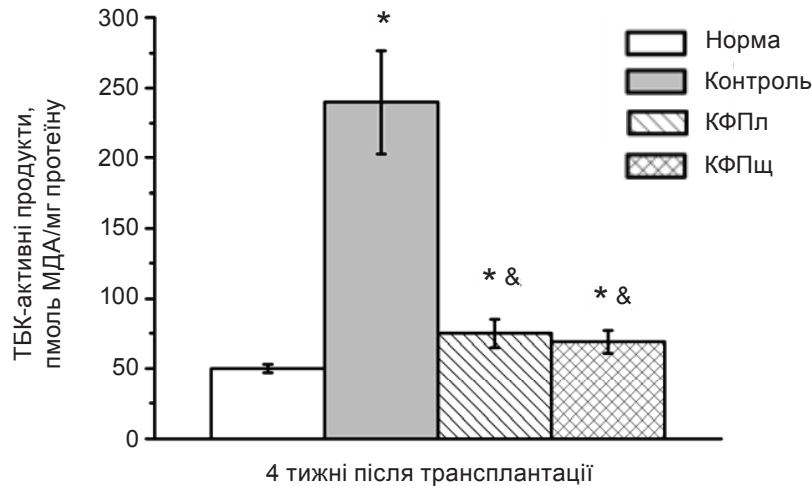


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у постмітохондріальній фракції печінки щурів з експериментальним цирозом через 4 тижні після введення КФП щурів та людини ( $n = 5$ ); \* вірогідно порівняно з відповідним показником у тварин групи «норма» ( $P < 0,05$ ); & вірогідно порівняно з відповідним показником у контрольній групі ( $P < 0,05$ )

спостерігається пригнічення активності всіх досліджуваних ензимів – КАТ, СОД, ГР та Se-залежної ГП (табл. 2), що в цілому характерно для моделі  $CCl_4$ -індукованого цирозу [17]. Ці зміни найчіткіше простежуються у разі вивчення каталазної, глутатіонредуктазної і Se-залежної глутатіонпероксидазної активності, що знижувались у 2,4, 3,5 і 4,8 рази відповідно (табл. 2). Активність СОД знижується менш виражено – у 1,6 рази.

Через 4 тижні після введення КФП людини та щурів відбувається зміна активності досліджуваних ензимів. Трансплантація КФП людини достовірно збільшує КАТ, ГР та Se-залежну ГП активність порівняно з контролем в 1,5, 1,6 та 1,8 рази відповідно. Схожим чином змінюється рівень активності показників після введення алогенних кріоконсервованих

клітин печінки. При цьому вплив КФП щурів на активність глутатіонзалежних ензимів дещо вираженіший порівняно з КФП людини – глутатіонредуктазна активність збільшується в 2,3 рази, а Se-залежна глутатіонпероксидазна активність – у 2 рази. Слід зазначити, що введення КФП щурів та людини суттєво не впливає на рівень активності СОД.

Одержані результати свідчать, що у тварин контрольної групи із цирозом печінки через 4 тижні після введення середовища, зберігалися всі ознаки хронічної печінкової недостатності. Біохімічний аналіз сироватки крові свідчить про пошкодження гепатоцитів і порушення функції печінки. Стан патологічного процесу характеризується 5-кратним збільшенням рівня ТБК-активних продуктів ПОЛ у печінці і 2-разовим – у сироватці крові, а та-

Таблиця 2. Активність ензимів антиоксидантного захисту в постмітохондріальній фракції печінки щурів з експериментальним цирозом через 4 тижні після введення КФП ( $n = 5$ )

Показник	Умови досліджу			
	Норма	Контроль	КФПл	КФПщ
Каталаза, мкмоль $H_2O_2$ /хв·мг протеїну	472,2 ± 38,9	197,2 ± 17,4*	303,5 ± 36,3*,&	321,7 ± 31,2*,&
СОД, ум. од./мг протеїну	1155 ± 67	725,1 ± 28,1*	743,6 ± 18,2*	691,2 ± 86,9*
ГР, нмоль NADPH/хв·мг протеїну	85,3 ± 5,3	24,0 ± 5,2*	39,8 ± 4,1*,&	56,1 ± 2,4*,&
Se-залежна ГП, нмоль NADPH/хв·мг протеїну	527,8 ± 33,5	109,6 ± 23,6*	193,2 ± 25,7*,&	229,6 ± 45,7*,&

кож зниженням активності неензиматичної антиоксидантної системи крові і ензиматичної системи печінки.

Гепатотоксична дія тетрахлорметану обумовлена утворенням високореактивних сполук у процесі його детоксикації монооксигеназною системою печінки, що призводить до розвитку окислювального стресу. Останній розглядають як один із факторів активації фіброгенної активності стелятних клітин – основних продуцентів протеїнів позаклітинного матриксу печінки [18, 19], і, як наслідок, розвитку фіброзу. У зв'язку з цим окислювальний стрес розглядають як важливу патогенетичну ланку у формуванні цирозу печінки, а введення речовин, які мають антиоксидантні властивості – як можливий спосіб корекції таких змін [3]. Тому в нашій роботі з метою корекції стану АОС тваринам з тетрахлорметаніндукованим цирозом вводили суспензію клітин, ізольованих з фетальної печінки. Підґрунтям для використання їх слугували попередні дослідження, в яких було встановлено, що КФП спричиняють нормалізуючу дію на стан АОС організму тварин із низкою експериментальних патологій – часткова гепатектомія, алкогольне ураження печінки в щурів та гіперхолестеринемія у кролів [4–6]. Незалежно від використаної моделі позитивний ефект дії КФП досягається шляхом впливу на АОС захисту: нормалізацією активності антиоксидантних ензимів і підвищенням активності неензиматичної системи. При цьому відновлення системи антиоксидантного захисту супроводжується покращенням специфічних біохімічних показників, що характеризують функціональний стан печінки, та частковим відновленням структури органу [4, 6], яке свідчить про загальне поліпшення стану тварин.

У нашому дослідженні застосування КФП як аlogenного, так і ксеногенного походження також приводить до часткового відновлення біохімічних маркерів крові та стану АОС у щурів із цирозом печінки. Через 4 тижні після трансплантації в організмі тварин істотно знижуються прояви оксидативного стресу – рівень продуктів ПОЛ у печінці і крові достовірно зменшується порівняно з контрольними тваринами. Такі зміни супроводжуються частковим відновленням системи антиоксидантного

захисту: збільшенням КАТ, ГР та Se-залежної активності ГП печінки, а також АОА крові.

Відомо, що на стан ензиматичної антиоксидантної системи печінки суттєво впливають цитокіни та фактори росту [20]. Зокрема, встановлено, що трансформуючий фактор росту-1 $\beta$ , кількість якого збільшується під час розвитку цирозу, пригнічує експресію генів деяких антиоксидантних ензимів (Mn-СОД, Cu, Zn-СОД, КАТ, глутатіон-S-трансферази), а інтерлейкін-1 $\beta$  та інтерлейкін-6 збільшують експресію гена Mn-СОД гепатоцитів. Розглянуті дані, а також те, що КФП здатні продукувати низку ростових факторів та цитокінів, зокрема інтерлейкін-1 $\beta$  та інтерлейкін-6 [21] можуть бути поясненням виявленого нормалізуючого ефекту КФП на стан ензиматичної антиоксидантної системи.

Привертає увагу той факт, що біологічні ефекти після одноразової ін'єкції кріоконсервованих КФП виявляються досить тривалий час – до 4-го тижня після їхньої трансплантації. Довготривалість дії КФП може свідчити про можливість приживлення трансплантованих клітин і реалізації їхньої дії в організмі реципієнта. Є відомості, що після алотрансплантації клітини фетальної печінки виживали в печінці та мозку дорослих мишей до 2 місяців [22]. Але в нашому разі це припущення потребує проведення відповідних досліджень, що дозволять встановити можливу локалізацію введених клітин.

Таким чином, ефект дії КФП на стан АОС організму тварин з експериментальним цирозом полягає у зниженні рівня ПОЛ і збільшенні активності високо- і низькомолекулярних антиоксидантних захисних систем. Основна спрямованість такої дії КФП збігається з ефектами, які спостерігались раніше за інших експериментальних патологій [4–6], що дозволяє розглядати трансплантацію КФП як універсальний метод корекції порушень регуляції ПОЛ при експериментальних патологіях печінки різної етіології. Не виключено, що саме підвищення надійності антиоксидантної захисної системи є основою терапевтичної дії КФП.

Роботу виконано за підтримки гранту УНТЦ № 4419.

**АКТИВАЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ЦИРРОЗОМ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ**

*О. В. Оченашко<sup>1</sup>, Ю. В. Никитченко<sup>2</sup>,  
А. С. Лебединский<sup>1</sup>, А. Н. Сукач<sup>1</sup>,  
А. Ю. Петренко<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков;  
<sup>2</sup>НИИ биологии Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина, Украина;  
e-mail: ochenashko@ukr.net

Исследована возможность восстановления антиоксидантной системы (АОС) организма крыс с экспериментальным циррозом печени (ЦП) после алло- и ксенотрансплантации криоконсервированных клеток фетальной печени (КФП). Установлено, что через 4 недели после трансплантации КФП у животных с ЦП уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени и крови достоверно уменьшался по сравнению с контрольной группой. Такие изменения сопровождались достоверным увеличением активности каталазы, глутатионредуктазы и Se-зависимой глутатионпероксидазы печени, а также общей антиокислительной активности крови.

Результаты работы свидетельствуют о том, что основная направленность действия КФП у животных с ЦП совпадает с эффектами, обнаруженными нами ранее на других экспериментальных моделях (частичная гепатэктомия, алкогольное поражение печени и гиперхолестеринемия). Это позволяет рассматривать клеточную терапию как универсальный метод коррекции нарушений регуляции свободнорадикальных процессов при экспериментальных патологиях разного генеза.

**Ключевые слова:** антиоксидантная система, экспериментальный цирроз, клетки фетальной печени, трансплантация.

**ANTIOXIDANT SYSTEM ACTIVATION IN RATS WITH EXPERIMENTAL CIRRHOSIS AFTER INJECTION OF CRYOPRESERVED FETAL LIVER CELLS**

*O. V. Ochenashko<sup>1</sup>, Yu. V. Nikitchenko<sup>2</sup>,  
A. S. Lebedinsky<sup>1</sup>, A. N. Sukach<sup>1</sup>,  
A. Yu. Petrenko<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv;

<sup>2</sup>Research Institute of Biology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine;  
e-mail: ochenashko@ukr.net

**S u m m a r y**

The possibility to recover the antioxidant system in rats with experimental liver cirrhosis (LC) after allo- and xenotransplantation of cryopreserved fetal liver cells (FLC) was investigated. It was shown that the content of lipid peroxidation products in the blood serum of animals with LC four weeks after FLC transplantation decreased significantly as compared to control group. Such changes were accompanied by a significant increase of catalase (CAT), glutathione reductase (GR), Se-dependent glutathione peroxidase (GP) activity in the liver and total anti-oxidative activity (AOA) of blood.

Obtained results demonstrate that the main direction of FLC effects in animals with LC agree with that we observed previously in other experimental models (partial hepatectomy, chronic alcohol poisoning and hypercholesterolemia). In conclusion, cell therapy may be considered as the universal method for correction of disorders in regulation of free-radical processes in various experimental pathologies.

**Key words:** antioxidant system, experimental cirrhosis, fetal liver cells, transplantation.

1. Kawamura K., Kobayashi Y., Kageyama F. et al. // Am. J. Gastroenterol. – 2000. – 95, N 12. – P. 3596–3601.

2. *Gonzalez-Reimers E., Lopez-Lirola A., Olivera R. et al.* // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2003. – **93**, N 1–3. – P. 127–140.
3. *Campo G., Avenoso A., Campo S. et al.* // *Chem. Biol. Interact.* – 2004. – **148**, N 3. – P. 125–138.
4. *Lebedinsky A. S., Cherkashina D. V., Sukach A. N. et al.* // *Cryobiology.* – 2007. – **55**, N 1. – P. 72–79.
5. *Нікітченко Ю. В., Оченашко О. В., Дзюба В. М. та ін.* // *Доп. НАН України.* – 2004. – № 4. – С. 174–178.
6. *Ковалев Г. А., Черкашина Д. В., Рязанцев В. В., Петренко А. Ю.* // *Пробл. криобиол.* – 2005. – **15**, № 3. – С. 418–421.
7. *Petrenko A. Yu., Sukach A. N.* // *Analyt. Biochem.* – 1991. – **194**, N 2. – P. 325–329.
8. *Ochenashko O., Volkova N., Mazur S. et al.* // *Cell Transplant.* – 2006. – **15**, N 1. – P. 23–33.
9. *Ohkawa H., Ohahi N., Jadi K.* // *Anal. Biochem.* – 1979. – **95**, N 2. – P. 351–358.
10. *Asakawa T., Matsushita S.* // *Lipids.* – 1980. – **15**, N 3. – P. 137–140.
11. *Клебанов Г. И., Бабенкова И. В., Теселкин Ю. В. и др.* // *Лаб. дело.* – 1988. – № 5. – С. 59–62.
12. *Paglia D. E., Valentine W. N.* // *J. Lab. Clin. Med.* – 1967. – **70**, N 1. – P. 158–169.
13. *Герасимов А. М., Королева Л. А., Брусов О. С. и др.* // *Вопр. мед. химии.* – 1976. – **22**, № 1. – С. 89–94.
14. *Beauchamp C., Fridovich I.* // *Anal. Biochem.* – 1971. – **44**, N 1. – P. 276–287.
15. *Marklund S., Norgens Son I., Back O.* // *J. Gerontol.* – 1981. – **36**, N 4. – P. 405–409.
16. *Miller G. L.* // *Anal. Chem.* – 1959. – **35**, N 5. – P. 964–966.
17. *Natarajan S., Thomas S., Ramamoorthy P. et al.* // *J. Gastroenterol.* – 2006. – **21**, N 8. – P. 947–957.
18. *Kim K. Y., Choi I., Kim S. S.* // *Mol. Cells.* – 2000. – **10**, N 3. – P. 289–300.
19. *Parola M., Robino G.* // *J. Hepatol.* – 2001. – **35**. – P. 297–306.
20. *Kayanoki Y., Fijii J., Suzuki K. et al.* // *J. Biol. Chem.* – 1994. – **269**, N 3. – P. 15488–15492.
21. *Sennikov S. V., Krysov S. V., Injelevskaya T. V. et al.* // *Europ. Cytokine Network.* – 2001. – **2**, N 12. – P. 274–279.
22. *Darinskas A., Gasparaviciute R., Malisauskas M. et al.* // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2007. – **12**, N 3. – P. 422–434.

Отримано 22.11.2010