

DOI: 10.15825/1995-1191-2019-1-113-121

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ КЛЕТКАМИ КОСТНОГО МОЗГА И ОБЩЕЙ РНК ЭТИХ КЛЕТОК

З.З. Гоникова, А.О. Никольская, Л.А. Кирсанова, М.Ю. Шагидулин, Н.А. Онищенко, В.И. Севастьянов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Обширная резекция печени (ОРП), выполняемая при ряде хирургических операций, относится к критической травме, что обуславливает необходимость совершенствования методов терапии острой пострезекционной печеночной недостаточности. **Цель:** сравнить эффективность стимуляции восстановительных процессов в резецированной (на 60–70%) печени путем внутрибрюшинного введения лизированного аспирата клеток костного мозга (ККМ) и общей РНК, выделенной из ККМ (оРНК). **Материалы и методы.** Работа выполнена на 175 крысах-самцах породы Вистар 250–300 г, у 75 из которых под ингаляционным наркозом воспроизвели модель ОРП в трех группах опытов: группа 1 – контрольная (введение физиологического раствора), группа 2 – через 3–5 часов после ОРП внутрибрюшинно вводили оРНК в дозе 30 мкг/100 г веса животного, группа 3 – через 3–5 часов после ОРП внутрибрюшинно вводили ККМ в дозе $30\text{--}35 \times 10^6$ клеток на крысу. Сравнительное исследование восстановительных процессов в печени после ОРП в трех группах осуществляли путем динамического контроля митотической активности гепатоцитов в печени, ферментов цитолиза и общего белка в сыворотке крови, а также массы печени. **Результаты.** Введение оРНК и ККМ в указанных дозах предотвращают опасность развития летальных исходов, а также способствуют более ранней (к 10–14-м суткам) нормализации функциональных показателей печеночного гомеостаза. Однако оРНК по сравнению с ККМ обладает более сильным стимулирующим воздействием на восстановительные процессы: способствует более ранней интенсификации митотической активности гепатоцитов и обеспечивает более высокий темп восстановления массы печени. **Заключение.** Для стимуляции восстановительных процессов в резецированной печени предпочтительно использовать оРНК.

Ключевые слова: обширная резекция печени, острая печеночная недостаточность, общая РНК, клетки костного мозга, регенерация печени.

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF STIMULATION OF LIVER REGENERATION BY BONE MARROW CELLS AND TOTAL RNA OF THESE CELLS

Z.Z. Gonikova, A.O. Nikolskaya, L.A. Kirsanova, M.Yu. Shagidulin, N.A. Onishchenko, V.I. Sevastianov

V.I. Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Extensive liver resection (ELR), performed in a number of surgical operations, refers to a critical injury, which necessitates the improvement of methods of therapy of acute post-resection liver failure. **Aim:** to compare the effectiveness of stimulation of regenerative processes in the liver residue after ELR (60–70%) by intraperitoneal administration of lysed aspirate bone marrow cells (BMCs) and total RNA (tRNA) isolated from BMCs. **Materials and methods.** This work was performed on 175 rats-male Wistar breed 250–300 g, on 75 of which under the inhalation anesthesia it was reproduced the model of the ELR in three groups of experiments: group 1 – control

Для корреспонденции: Гоникова Залина Залимгериевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (966) 188-33-33. E-mail: zalina3392@gmail.com

For correspondence: Gonikova Zalina Zalimgerievna. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. (966) 188-33-33. E-mail: zalina3393@gmail.com

(administration of isotonic solution after ELR), group 2 – in 3–5 hours after ELR the tRNA from BMCs was intraperitoneally injected at a dose of 30 µg/100 g, group 3 – in 3–5 hours after ELR BMCs was administered intraperitoneally at a dose of $30\text{--}35 \times 10^6$ cells per rat. Comparative studies of the restorative processes in the liver after the ELR in the three groups were carried out by dynamic control of the mitotic activity of hepatocytes in the liver residue, cytolytic enzymes, total bilirubin and total serum protein, as well as the liver residue (mass) weight. **Results.** The tRNA from BMCs and BMCs in the indicated doses prevent the risk of the development of lethal outcomes, and also contribute to an earlier (by 10–14 days) normalization of the functional indices of hepatic homeostasis. However, the tRNA from BMCs, compared with BMCs, has a stronger stimulating effect on the recovery processes: it promotes earlier intensification of mitotic activity of hepatocytes and provides a higher rate of recovery of liver mass. **Conclusion.** For the induction of recovery processes in the liver residue after ELR, the preference should be given to the tRNA from BMCs.

Key words: extensive liver resection, acute liver failure, total RNA, bone marrow cells, liver regeneration.

Обширную резекцию печени (ОРП) выполняют чаще всего при онкологических заболеваниях печени [1, 2], а также у доноров при родственной трансплантации правой доли печени, масса которой составляет 70% и более [3]. Ее относят к критической травме, так как при этом удаляют от 60% и более общей массы печени и в пострезекционном периоде часто возникают клинические проявления острой печеночной недостаточности (ОПН), которые уже к концу первых суток наблюдаются у 13,0–25,8% пациентов, а показатель смертности от ОПН у этой категории больных в раннем послеоперационном периоде достигает 7% [4].

Развитие ОПН в раннем пострезекционном периоде связывают со стрессорным ингибированием в малом остатке печени процессов пролиферации клеток, которые необходимы для быстрого восстановления исходных размеров (массы) печени и поддержания печеночного гомеостаза в организме. Гистологически синдром малого остатка печени после ОРП проявляется в течение первых 30 часов усилением клеточного повреждения [5] и развитием временного блока митотической активности гепатоцитов при выходе их из G₀-периода клеточного цикла. Отмечено также, что отчетливые признаки усиления пролиферативной активности клеток печени после ОРП появляются лишь через 48 часов после выполнения этой операции [6]. Эта запоздалая, отодвинутая во времени активация восстановительных процессов в резецированной печени лежит в основе развития клиники тяжелой ОПН и летальных исходов у пациентов.

Для предотвращения пострезекционной ОПН в раннем послеоперационном периоде разработаны новые хирургические приемы щадящего выполнения этих операций [7–9]. Была также предложена тактика расширенного применения экстракорпоральных систем детоксикации организма [10] и медикаментозных препаратов, способных повысить в сохранившихся клетках печени митотическую и пролиферативную активность, требуемую для восстановления исходных размеров этого органа [11–16].

Недостаточная эффективность предложенных методов лечения пострезекционной ОПН послужила основанием для разработки биотехнологических методов интенсивной терапии ОПН, основанных на применении экстрактов ткани печени, полученных либо от крыс с 70% резекцией, либо от неонатальных поросят [17]. Однако при возможном клиническом применении экстрактов из нативных тканей всегда существует потенциальная опасность заражения пациента трансмиссивными инфекциями животных, а изготовление высокоэффективного медикаментозного препарата из экстракта животных тканей предполагает идентификацию химического переносчика биологических эффектов и выделение его из тканевого экстракта, что авторами не было предпринято.

В последние годы стал известен новый биотехнологический способ лечения ОПН после ОРП, который основан на имплантации в организм (брыжейку тонкой кишки) клеточно-инженерных конструкций, состоящих из сокультивированных аллогенных клеток печени и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (ММСК КМ) в составе биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля [18]. Достоверно ускоренное восстановление функции печени авторы объясняют высоким регенерационным потенциалом культивированных стволовых/прогениторных клеток, выделенных из костного мозга. В последние годы механизмы, с помощью которых эти клетки реализуют свой регенерационный потенциал, исследователи стали связывать с недавно открытым классом многочисленных белок не кодирующих РНК, и прежде всего с молекулами микро-РНК [19, 20]. Между тем известно, что РНК клеток костного мозга, как и других клеток, представляет собой сложную систему комплексно реагирующих сигнальных молекул различных классов РНК, результирующий регуляторный эффект которых достигается взаимодействием не только многочисленных белок не кодирующих РНК, но и белок кодирующих РНК [19, 21, 22]. Представление об определяющей регуляторной роли комплекса различных классов РНК в клетках позволило уже

сейчас применять экзогенную суммарную РНК из лимфоцитов периферической крови или клеток КМ донора для индукции восстановительных процессов в самом костном мозге при различных патологических состояниях кроветворной системы [23, 24].

Цель настоящей работы: сравнить эффективность стимуляции восстановительных процессов в резецированной печени после ОРП с помощью лизированной фракции несортированных клеток костного мозга (ККМ) и общей РНК (оРНК), выделенной из ККМ, использование которых предназначено ускорить преодоление критической массы остатка печени и предотвратить гибель животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все экспериментальные исследования с использованием лабораторных животных проводили в строгом соответствии с законодательством Российской Федерации (в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России № 708 от 23.08.2010 г., а также стандартом ГОСТ Р ИСО 10993-2-2009 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2. Требования к условиям содержания животных») и с соблюдением биоэтических принципов, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (2005).

Работа выполнена на 175 крысах-самцах породы Вистар весом 250–350 г, у 75 из которых воспроизводили модель ОРП; остальные крысы были использованы для получения ККМ и для выделения из них оРНК. Перед моделированием ОРП оперируемых крыс наркотизировали ингаляционно диэтиловым эфиром. Затем с соблюдением правил асептики и антисептики вскрывали брюшную полость, выводили печень в рану и последовательно накладывали лигатуры на основания срединной, левой боковой и правой верхней долей печени, после чего их удаляли (всего 60–70% общей массы печени). Операцию всегда проводили в утренние часы (в период с 10 до 12 часов), когда суточный ритм митотической активности клеток печени минимален.

Все животные после ОРП были разделены на три группы: группа 1 – контрольная ($n = 25$), введение физиологического раствора (ФР); группа 2 – опытная ($n = 25$), в которой через 3–5 часов после ОРП внутрибрюшинно однократно вводили оРНК в дозе 30 мкг/100 г веса, выделенную ККМ здоровых крыс-доноров; группа 3 – опытная, в которой через 3–5 часов после ОРП внутрибрюшинно однократно вводили ККМ в дозе $30\text{--}35,0 \times 10^6$ клеток на крысу.

Общую РНК из ККМ выделяли методом, разработанным фирмой «Евроген» (Россия) с помощью реактива ExtractRNA, который позволял получать

из каждых $35,0 \times 10^6$ клеток около $148,5 \pm 22,3$ мкг оРНК.

Сравнительную эффективность стимулирующего воздействия оРНК и ККМ на процессы восстановительной регенерации печени после ОРП оценивали по митотической (пролиферативной) активности гепатоцитов в резецированной печени через 24 и 36 ч, а также на 2, 3, 5, 7 и 10-е сутки после ОРП во всех группах животных. Для этого в указанные сроки иссекали печень, готовили из нее гистологические препараты с последующей окраской срезов ткани печени гематоксилином и эозином и определяли в 30 полях зрения количество гепатоцитов в стадии митоза, а также рассчитывали митотический индекс (МИ) в промиллях (‰).

Влияние оРНК и ККМ на процессы восстановления печеночного гомеостаза в организме в ранние сроки после ОРП оценивали путем динамического измерения в сыворотке крови общего белка, общего билирубина и печеночных ферментов цитолиза: аламинная аминотрансфераза (АлАТ), аспарагиновая аминотрансфераза (АсАТ) и щелочная фосфатаза (ЩФ).

Влияние предлагаемой технологии на темп преодоления критической массы остатка печени и восстановления его до исходных значений после ОРП исследовали в течение 28 суток. Для этого у каждого оперированного животного сразу после ОРП взвешивали удаленную часть печени, которую принимали за 70% от общей массы печени, затем на основании этих измерений рассчитывали исходную массу печени для каждого животного. Далее на каждом исследуемом сроке эксплантировали оставшуюся печень, определяли ее массу и полученные значения сравнивали с рассчитанной исходной массой печени для данного животного. Достоверность различия исследуемых показателей в сравниваемых группах оценивали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента, при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из 75 крыс в течение первых 5 суток после резекции печени погибло 5 животных, и общая летальность составила 6,7%. Все животные, погибшие после ОРП, относились к группе 1 (контроль, введение ФР, исходное значение $n = 25$), летальность в которой составила 20%. В группах 2 и 3 (опытные группы) летальность отсутствовала в течение всего срока эксперимента.

У животных опытных групп 2 и 3 наблюдали ускоренный темп восстановления печеночного гомеостаза в организме, что выражалось в более ранней нормализации показателей общего белка, общего билирубина и цитолитических ферментов в сыво-

ротке крови по сравнению с контрольной группой 1 (табл. 1–3).

В контрольной группе показатели цитолиза у выживших животных резко и неуклонно нарастали в

течение первых 5 суток после ОРП, затем стабилизировались, и только начиная с 7–10-х суток появлялась отчетливая тенденция к их нормализации. Показатели общего белка в течение первых двух суток

Таблица 1

Динамика изменения общего белка, общего билирубина и ферментов цитолиза клеток печени (АлАТ, АсАТ и ЩФ) в группе 1 после ОРП и введения ФР (n = 20)

Dynamics of changes in total protein, total bilirubin and liver cell cytolysis enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase) in group 1 after extensive liver resection and injection of saline solution (n = 20)

Сроки наблюдения (сутки)	Группа 1 (контроль, ФР), n = 20				
	АсАТ	АлАТ	ЩФ	Билирубин общий	Белок общий
Исход	58 ± 8	40 ± 6	240 ± 24	0,0 ± 1,67	98 ± 20
2	570 ± 29*	310 ± 10*	1102 ± 21*	10,2 ± 2*	21 ± 16*
3	490 ± 20*	320 ± 21*	1009 ± 29*	12,3 ± 1,5*	24 ± 11*
5	420 ± 27*	290 ± 18*	982 ± 22*	10,8 ± 1,3*	36 ± 13*
7	360 ± 24*	282 ± 15*	893 ± 24*	9,0 ± 1,9*	41 ± 9*
10	299 ± 22*	269 ± 18*	760 ± 24*	8,3 ± 2,0*	45 ± 6*
14	220 ± 16*	241 ± 13*	640 ± 20*	6,5 ± 1,0*	51 ± 7*

Примечание. * – p < 0,05 по сравнению с исходным уровнем.

Note. * – p < 0,05 compared to baseline.

Таблица 2

Динамика изменения общего белка, общего билирубина и ферментов цитолиза клеток печени (АлАТ, АсАТ и ЩФ) в группе 2 после ОРП и введения оРНК (n = 25)

Dynamics of changes in total protein, total bilirubin and liver cell cytolysis enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase) in group 2 after extensive liver resection and injection of total RNA (n = 25)

Сроки наблюдения (сутки)	Опытная группа 2 (оРНК), n = 25				
	АсАТ	АлАТ	ЩФ	Билирубин общий	Белок общий
Исход	58 ± 8	40 ± 6	240 ± 24	0,0 ± 1,67	98 ± 20
2	323 ± 20*	76 ± 17*	887 ± 30*	6,9 ± 1,3*	48 ± 17*
3	293 ± 18*	88 ± 18*	632 ± 28*	6,5 ± 1,2*	52 ± 16*
5	238 ± 19*	78 ± 19*	460 ± 32*	5,1 ± 1,1*	57 ± 16*
7	115 ± 11*	69 ± 6*	346 ± 26*	3,1 ± 1,0*	60 ± 7*
10	82 ± 12*	58 ± 12	257 ± 15	2,7 ± 0,9*	68 ± 8*
14	66 ± 7	44 ± 6	230 ± 14	1,9 ± 0,8	84 ± 12

Примечание. * – p < 0,05 по сравнению с исходным уровнем.

Note. * – p < 0,05 compared to baseline.

Таблица 3

Динамика изменения общего белка, общего билирубина и ферментов цитолиза клеток печени (АлАТ, АсАТ и ЩФ) в группе 3 после ОРП и введения ККМ (n = 25)

Dynamics of changes in total protein, total bilirubin and liver cell cytolysis enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase) in group 3 after extensive liver resection and injection of bone marrow cells (n = 25)

Сроки наблюдения (сутки)	Опытная группа 3 (ККМ), n = 25				
	АсАТ	АлАТ	ЩФ	Билирубин общий	Белок общий
Исход	58 ± 8	40 ± 6	240 ± 24	0,0 ± 1,67	98 ± 20
2	350 ± 10*	122 ± 27*	910 ± 17*	8 ± 2*	36 ± 16*
3	340 ± 12*	119 ± 16*	670 ± 15*	7,1 ± 1,8*	45 ± 10*
5	290 ± 15*	102 ± 21*	486 ± 16*	6,8 ± 1,0*	51 ± 18*
7	150 ± 23*	97 ± 15*	370 ± 13*	4,3 ± 1,3*	54 ± 8*
10	100 ± 12*	79 ± 6*	310 ± 19*	2,9 ± 0,6*	65 ± 5*
14	70 ± 9	61 ± 5*	250 ± 12	2,3 ± 0,2*	88 ± 7

Примечание. * – p < 0,05 по сравнению с исходным уровнем.

Note. * – p < 0,05 compared to baseline.

были резко снижены, и начиная с 5–7-х суток уровень белка в сыворотке крови постепенно увеличивался, но не достигал исходных значений нормы до конца наблюдений (14-е сутки).

В опытной группе 2, в которой животным после ОРП вводили оРНК (табл. 2), показатели цитолиза оставались стабильно высокими только в течение 1–3 суток, но уже к 5-м суткам наступало отчетливое снижение цитолитической активности всех исследованных печеночных ферментов в сыворотке крови крыс по сравнению с контролем ($p < 0,05$) на том же сроке. В результате значения исследуемых показателей в сыворотке крови приближались к норме уже на 10-е сутки и не отличались от исходных значений к 14-м суткам наблюдения. Восстановление уровня общего белка в сыворотке крови в этой группе также проходило в более высоком темпе по сравнению с контрольной группой, и к концу наблюдений (14-е сутки) показатели не отличались от исходных значений.

В опытной группе 3 с введением ККМ после ОРП (табл. 3) исследуемые показатели изменялись аналогично изменениям показателей в группе 2 (введение оРНК). Показатели цитолиза нарастали в течение первых трех суток, затем стабилизировались и снижались, приближаясь к норме на 10-е сутки. К 14-м суткам большинство показателей (АсАТ, ЩФ, общий белок) восстанавливались до исходных значений.

Было выдвинуто предположение, что более высокий темп нормализации показателей печеночного гомеостаза в организме в группах 2 и 3 по сравнению с контролем обусловлен повышением интенсивности пролиферативных процессов (митотическая актив-

ность гепатоцитов) в резецированной печени после введения оРНК или ККМ.

Действительно, исследование митотической активности гепатоцитов в резецированной печени, оцениваемой по митотическому индексу (МИ), позволило установить достоверное ее увеличение через 2 суток после ОРП во всех трех исследуемых группах по сравнению с исходным значением (до резекции печени), равным 0,2–0,3% (1–2 митоза на 30 полей зрения).

Через 2 суток после ОРП в контрольной группе 1 МИ достиг значения 5,378‰ (на 6693 клетки определялось 36 митозов); в опытной группе 2 – 23,45‰ (на 9678 клеток определялось 227 митозов), т. е. приблизительно в 5 раз выше, чем в контрольной группе; в опытной группе 3 – 6,96‰ (на 8448 клетки определялось 60 митозов). Таким образом, введение ККМ через 2 суток оказывало менее выраженное стимулирующее воздействие на митотическую активность клеток печени, чем оРНК при тех же условиях.

Через 3 суток после ОРП во всех группах значения МИ оставались на более высоком уровне относительно исходного, но по сравнению со 2-ми сутками в контрольной и опытной группе 2 значения МИ снизились до 3,7 и 6,36‰ соответственно. Напротив, в опытной группе 3 значение МИ повысилось до 10,33‰.

В группах 1 и 2 на 2-е сутки МИ достигал максимальных значений, затем начинал снижаться, тогда как в 3-й группе максимальное значение наблюдали только на 3-и сутки (рис. 1).

Таким образом, в резецированной печени после ОРП во всех группах животных было отмечено повышение митотической активности гепатоцитов, однако

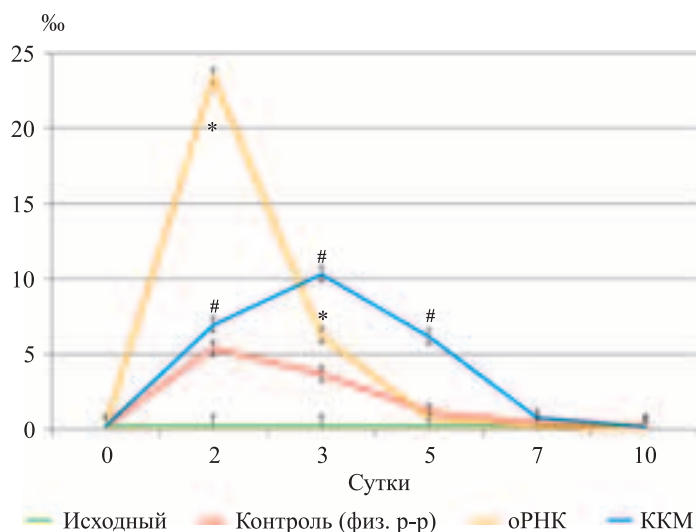


Рис. 1. Динамика изменения митотического индекса в печени крыс после ОРП. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # – $p < 0,05$ по сравнению с группами 1 и 2

Fig. 1. Dynamics of changes in the hepatic mitotic index in rat liver after extensive liver resection. * – $p < 0,05$ compared to control; # – $p < 0,05$ compared to group 1 and 2

при дополнительном введении оРНК она была наиболее выраженной и на более ранних сроках (через 2 суток) по сравнению с группой 3, где значения МИ после введения ККМ оставались в два раза меньше по сравнению со 2-й группой.

Найденные закономерности подтверждаются результатами сравнительного гистологического анализа срезов ткани печени, на которых видна более высокая митотическая активность гепатоцитов через 2 суток в группе 2 при введении оРНК (рис. 2) и более выраженные проявления митотической активности гепатоцитов через 3 суток в группе 3 при введении ККМ (рис. 3).

Из полученных результатов изучения митотической активности гепатоцитов в исследуемых группах следует, что ОРП индуцирует пролиферативную активность гепатоцитов, а введение оРНК и ККМ после ОРП усиливает пролиферативную активность клеток, причем оРНК оказывало наиболее мощное стимулирующее воздействие на пролиферацию гепа-

тоцитов в резецированной печени и на более ранних сроках.

На рис. 4 представлена динамика восстановления массы печени после ОРП в трех исследуемых группах. Как следствие более высокой митотической активности гепатоцитов в группе 2 (введение оРНК) установлена наибольшая скорость восстановления массы печени, в том числе по сравнению с опытной группой 3.

Наиболее высокий темп восстановления массы печени отмечался в экспериментах группы 2, где через 3–5 часов после ОРП внутрибрюшинно вводили оРНК. Восстановление массы печени в этой группе происходило к 12–14-м суткам. Введение ККМ также ускоряло регенерационные процессы в резецированной печени, и восстановление массы печени до исходных значений происходило к 14–18-м суткам. В контрольной группе животных с введением ФР восстановление массы печени происходило только на 18–22-е сутки после ОРП.

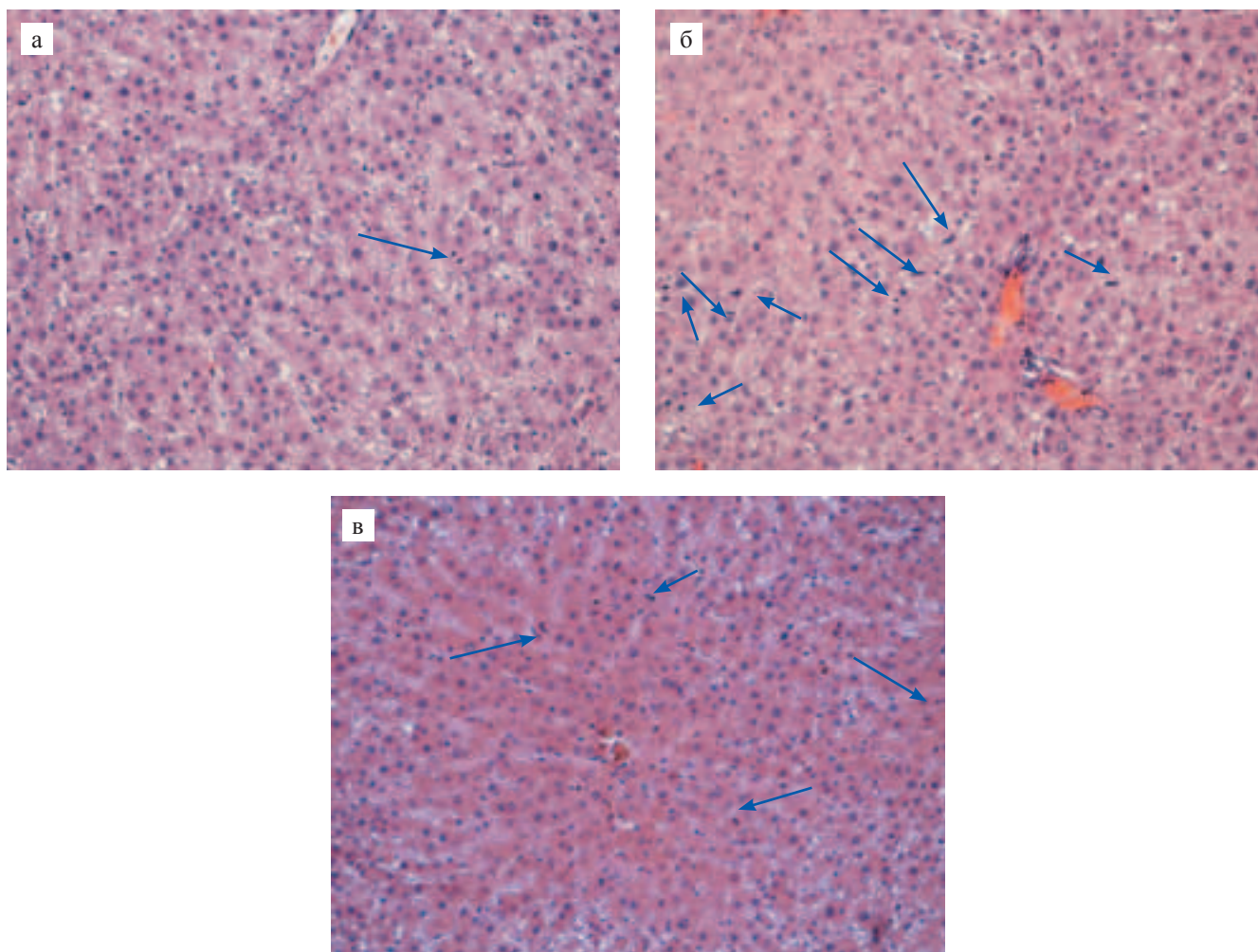


Рис. 2. Митотическая активность гепатоцитов через 2 суток после ОРП в исследуемых группах: а – контроль (ФР); б – группа 2 (оРНК); в – группа 3 (ККМ). Гематоксилин и эозин, ×200. Стрелками указаны гепатоциты в стадии митоза

Fig. 2. Mitotic activity of hepatocytes in 2 days after ELR in the studied groups: а – control (saline); б – group 2 (tRNA); в – group 3 (BMC). Hematoxylin and eosin, ×200. Arrows indicate hepatocytes in the stage of mitosis

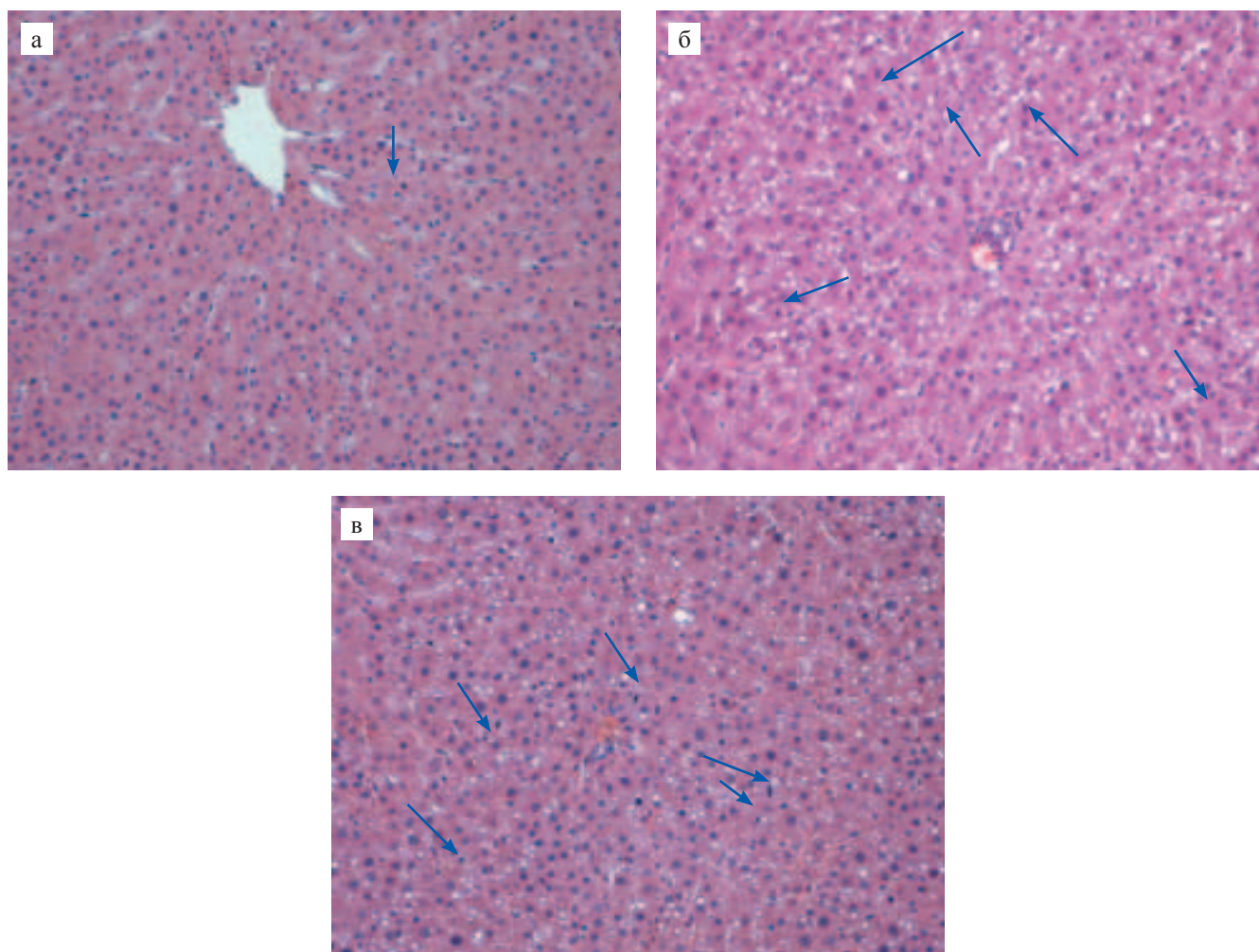


Рис. 3. Митотическая активность гепатоцитов через 3 суток после ОРП и введения: а – ФР (контроль); б – оРНК (группа 2); в – ККМ (группа 3). Гематоксилин и эозин, $\times 200$. Стрелками указаны гепатоциты в стадии митоза

Fig. 3. Mitotic activity of hepatocytes in 3 days after ELR and the introduction of: a – saline (control); б – tRNA (group 2); в – BMC (group 3). Hematoxilin and eosin, $\times 200$. Arrows indicate hepatocytes in the stage of mitosis

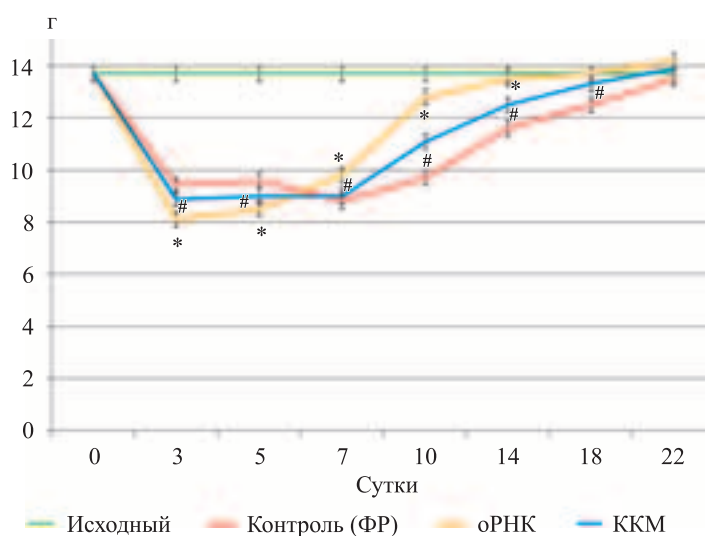


Рис. 4. Динамика изменения массы печени после ОРП в исследуемых группах. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # – $p < 0,05$ по сравнению с группами 1 и 2

Fig. 4. The dynamics of change in weight of the liver after ELR in the studied groups. * – $p < 0,05$ compared to control; # – $p < 0,05$ compared to groups 1 and 2

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение оРНК в дозе 30 мкг/100 г веса животного стимулирует наиболее выраженную активацию регенерационных процессов в печени после ОРП. Применение ККМ в используемой дозе, равноценной применяемой дозе оРНК, также способствует ускорению восстановительных процессов в резецированной печени, но выявленное ускорение протекает в более замедленном темпе, чем при использовании оРНК. Это можно объяснить тем, что оРНК представляет собой комплекс сигнальных молекул РНК различных классов, который способен беспрепятственно и более быстро проникать в различные клетки, а также транспортироваться ими (и их экзосомами) и поэтому осуществлять более мощный запуск регенерационных процессов по сравнению с ККМ, являющимися источником для получения РНК.

Считаем важным подчеркнуть также, что при изучении динамики восстановления массы печени после ОРП в экспериментах с введением оРНК и ККМ масса резецированной печени на ранних сроках (вплоть до 3-х и 5-х суток) становилась достоверно меньше, чем в контроле (рис. 4). По-видимому, восстановительная регенерация органов, в том числе печени после ОРП, формируется в рамках эволюционно выработанного механизма – неспецифического адаптационного синдрома клеточных систем, который обеспечивает сохранение структурного гомеостаза клеток, но на сниженном энергетическом уровне [25]. Применение оРНК и ККМ на фоне ОРП усиливает проявления неспецифического адаптационного синдрома, который не только обеспечивает повышение резистентности оставшихся гепатоцитов к создавшейся функциональной перегрузке, но также создает условия для адаптационного перепрограммирования метаболизма клеток и последующего ускорения процессов их жизнедеятельности.

Такая индуцированная перестройка в клетках при развитии неспецифического адаптационного синдрома должна сопровождаться кратковременным усилением некробиоза (или обратимого апоптоза) клеток печени со снижением их массы (например, за счет уменьшения в клетках и ткани печени содержания свободной воды), что, по результатам проведенных исследований, было наиболее выражено при использовании оРНК из ККМ, обладающей более мощным стимулирующим воздействием.

ВЫВОДЫ

1. Применение общей РНК клеток костного мозга или суспензии клеток костного мозга в используемых дозах устраняет опасность развития летальных исходов после ОРП, т. е. в более ранние сроки по сравнению с контролем восстанавливается печеночный гомеостаз в организме.
2. Общая РНК клеток костного мозга по сравнению с самими клетками обладает более мощным стимулирующим воздействием на регенерационные процессы в клетках печени после ОРП. Это выражается в более раннем и интенсивном повышении уровня митотической активности гепатоцитов, а также в достоверно более раннем восстановлении массы печени после ОРП по сравнению с контролем и введением клеток костного мозга.
3. Общая РНК клеток костного мозга, представляя собой комплекс сигнальных молекул, по сравнению с клетками костного мозга развивает более выраженный регенерационный эффект за счет более мощного включения эволюционно выработанного механизма – неспецифического адаптационного синдрома клеточных систем. Это проявлялось на ранних сроках после ОРП достоверно более выраженным первоначальным кратковременным снижением массы печени по сравнению с контролем и введением клеток костного мозга.
4. При индукции восстановительных процессов в резецированной печени после ОРП, используя стимулирующее воздействие клеток костного мозга и РНК из них, предпочтение следует отдавать общей РНК.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Kawamura T, Noji T, Okamura K et al. Postoperative Liver Failure: Criteria for Predicting Mortality after Major Hepatectomy with Extrahepatic Bile Duct Resection. *Dig Surg.* 2018 Feb; 8. doi: 10.1159/000486906.
2. Khan AS, Garcia-Aroz S, Ansari MA et al. Assessment and optimization of liver volume before major hepatic resection: Current guidelines and a narrative review. *Int J Surg.* 2018 Apr; 52: 74–81.
3. Dahm F, Georgiev P, Clavien PA. Small-for-size syndrome after partial liver transplantation: definition, mechanisms of disease and clinical implications. *Am J Transplant.* 2005; 5 (11): 2605–2610.
4. Котельникова ЛП, Будянская ИМ. Профилактика и лечение осложнений после резекции печени. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова.* 2012; 171 (3): 67–71. Kotel'nikova LP, Budyanskaya IM. Prevention and treatment of complications after liver resection. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova.* 2012; 171 (3): 67–71.
5. Panis Y, McMullan DM, Emond JC. Progressive necrosis after hepatectomy and the pathophysiology of liver failure after massive resection. *Surgery.* 1997; 121: 142–149.
6. Ельчанинов АВ. Молекулярные и клеточные механизмы регенерации печени после субтотальной резекции в эксперименте: автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2017. 41 с. El'chaninov AV. Molecular and cellular mechanisms of liver regeneration after Subtotal resec-

- tion in experiment: autoref. dis. ... doct. med. nauk. M., 2017. 41 p.
7. Vivarelli M, Vincenzi P, Montalti R, Fava G, Tavio M, Coletta M et al. ALPPS Procedure for Extended Liver Resections: A Single Centre Experience and a Systematic Review. *PLoS One*. 2015; 10 (12): 23.
 8. Mahnken AH. Current status of transarterial radioembolization. *World J Radiol*. 2016; 8 (5): 449–459.
 9. Nardo B, Vaccarisi S, Pellegrino V, Cannistra M, Barcellona E, Cavallari G. Extracorporeal portal vein arterialization in man after extended hepatectomy to prevent acute liver failure: a case report. *Transplant Proc*. 2011; 43 (4): 1193–1195.
 10. Karvellas CJ, Subramanian RM. Current Evidence for Extracorporeal Liver Support Systems in Acute Liver Failure and Acute-on-Chronic Liver Failure. *Crit Care Clin*. 2016; 32 (3): 439–451.
 11. Baretta GA, Gama Filho O, Toderke EL, Tolazzi AR, Matias JE. Effect of cyclosporine on liver regeneration in partial hepatectomized rats. *Acta Cir Bras*. 2015; 30 (1): 54–59.
 12. D'Espessailles A, Dossi C, Intriago G, Leiva P, Romanque P. Hormonal pretreatment preserves liver regenerative capacity and minimizes inflammation after partial hepatectomy. *Annals of hepatology*. 2013; 12 (6): 981–991.
 13. Hu C, Shen S, Zhang A, Ren B, Lin F. The liver protective effect of methylprednisolone on a new experimental acute-on-chronic liver failure model in rats. *Dig Liver Dis*. 2014; 6 (10): 928–935.
 14. Inokuma T, Yamanouchi K, Tomonaga T, Miyazaki K, Hamasaki K, Hidaka M et al. Curcumin improves the survival rate after a massive hepatectomy in rats. *Hepatology*. 2012; 59 (119): 2243–2247.
 15. Qiu YD, Wang S, Yang Y, Yan XP. Omega-3 polyunsaturated fatty acids promote liver regeneration after 90% hepatectomy in rats. *World J Gastroenterol*. 2012; 18 (25): 3288–3295.
 16. Sato T, Yasui O, Kurokawa T, Asanuma Y, Koyama K. Appraisal of intra-arterial infusion of prostaglandin E1 in patients undergoing major hepatic resection report of four case. *Tohoku J Exp Med*. 2001; 195 (2): 125–133.
 17. Гальперин ЭИ, Дюзьева ТГ, Платонова ЛВ и др. Уменьшение повреждения печени при ее обширной резекции и токсическом поражении. *Анналы хирургической гепатологии*. 2008; 13 (1): 51–55. Gal'perin EI, Dyuzheva TG, Platonova LV et al. Reduction of liver damage in its extensive resection and toxic damage. *Annaly hirurgicheskoy gepatologii*. 2008; 13 (1): 51–55.
 18. Shagidulin M, Onishchenko N, Krashennnikov M et al. Transplantation liver cells and multipotent mesenchymal stromal cells for correction and treatment of hepatic failure. *Medimond International Proceedings*. 2010: 83–86.
 19. Бойко НВ, Голиков АЮ, Тарасов ВА, Матишов ДГ. Роль микроРНК в регуляции активности генов у эукариот. *Вестник южного научного центра РАН*. 2011; 7 (3): 69–78. Boyko NV, Golikov AYU, Tarasov VA, Matishov DG. Role of microRNA in regulation of gene activity in eukaryotes. *Vestnik yuzhnogo nauchnogo centra RAN*. 2011; 7 (3): 69–78.
 20. Prasanth KV, Spector DL. Eukaryotic regulatory RNAs: an answer to the genome complexity conundrum. *Genes and Development*. 2007; 21: 11–42.
 21. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are: conserved targets of microRNAs. *Genome Res*. 2009 Jan; 19 (1): 92–105. doi: 10.1101/gr.082701.108. Epub 2008 Oct 27.
 22. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*. 2004 Jul; 5 (7): 522–531.
 23. Тишевская НВ, Геворкян НМ, Бабаева АГ, Захаров ЮМ и др. Влияние суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз при экспериментальной полицитемии. *Российский физиол. журнал им. И.М. Сеченова*. 2015; 101 (4): 451–461. Tishevskaya NV, Gevorkyan NM, Babaeva AG, Zaharov YuM et al. The influence of the total mRNA of lymphoid cells of the spleen on erythropoiesis at experimental polycythemia. *Rossijskij fiziol. zhurnal im I.M. Sechenova*. 2015; 101 (4): 451–456.
 24. Бабаева АГ, Геворкян НМ, Тишевская НВ, Головкина ЛЛ и др. О гемопоэтических свойствах рибонуклеиновой кислоты лимфоцитов периферической крови больных истинной полицитемией и здоровых доноров. *Онкогематология*. 2015; 2 (10): 58–62. Babaeva AG, Gevorkyan NM, Tishevskaya NV, Golovkina LL et al. About hematopoietic properties of ribonucleic acid of peripheral blood lymphocytes of patients with true polycythemia and healthy donors. *Oncogematologiya*. 2015; 2 (10): 58–62.
 25. Онищенко НА. Цитогенетическая рекапитуляция, индуцированная медикаментозными препаратами, как универсальный этап формирования срочной защиты органов от повреждения при трансплантации. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016; 60 (4): 148–153. Onishchenko NA. Cytogenetic recapitulation, induced by medical preparations, as the universal stage of formation of urgent protection against damage at organ transplantation. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2016; 60 (4): 148–153.

Статья поступила в редакцию 25.01.2019 г.
The article was submitted to the journal on 25.01.2019