

УДК 602.9:616.36-092:57.085.2

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СОСТОЯТЕЛЬНОСТИ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ

Дубко А. Д., Музыченко Б. А., Величко А. В.

Международный государственный экологический институт
им. А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета

e-mail: dubko.immun@gmail.com

Summary. The development of functionally competent tissue-engineered liver constructs has a high practical potential and allows studying the processes of liver tissue regeneration, cell differentiation, metabolic mechanisms of biotransformation and bioactivation of xenobiotics at a qualitatively new level. The assembled tissue-engineered liver constructs, consisting of decellularized liver matrix and allogeneic cell cultures, have synthesizing activity (albumin, urea) and respond to ethanol stimulation by activating the monooxygenase system.

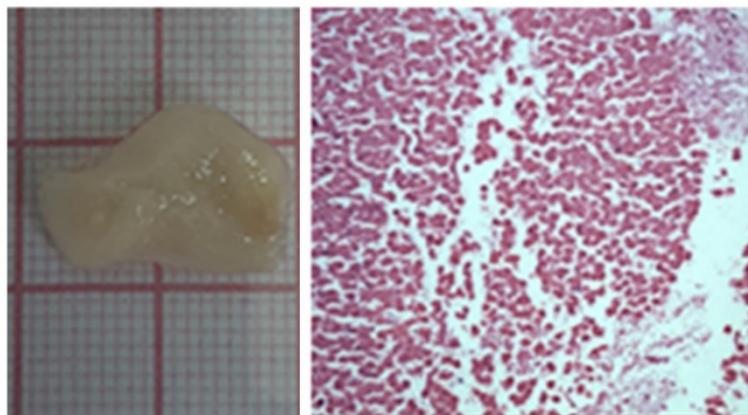
Разработка функционально состоятельных тканеинженерных конструкций печени (ТИК) обладает высоким практическим потенциалом и позволяет изучать на качественно новом уровне процессы регенерации печеночной ткани, дифференцировки клеток, метаболические механизмы биотрансформации и биоактивации ксенобиотиков [1].

Целью работы являлась разработка ТИК печени крысы на основе децеллюляризованного печеночного матрикса и аллогенных клеточных культур с последующей оценкой функциональной состоятельности.

Для сборки ТИК использовали изолированные доли децеллюляризованного скаффолда печени крысы ($n = 12$) объёмом от 1,6 до 2,1 см³ [2]. Рецеллюляризацию образцов скаффолда проводили инъекционным способом в два этапа: сначала формировали подложку из мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток ($2,5 \times 10^5$ кл/см³), затем через 24 часа вводили свежeweделенные культуры гепатоцитов ($2,0 \times 10^6$ кл/см³) и перитонеальных макрофагов ($2,5 \times 10^5$ кл/см³) (рис. 1). ТИК культивировали течение 9 суток при 37 °С и 5 % CO₂ с непрерывной циркуляцией питательной среды со скоростью 5 мл/мин.

Оценку функциональной состоятельности ТИК проводили по синтезу альбумина и мочевины на 1, 3, 6, 9 сутки. На 1 сутки культивирования ТИК обладали максимальной синтезирующей активностью: продукция альбумина составила $26,6 \pm 0,18$ мг/млн кл/сут, что в 14 раз больше, чем в монослойной ко-культуре ($1,9 \pm 0,3$ мг/млн кл/сут), мочевины – $8,85 \pm 0,12$ мкг/млн кл/сут.

Однако, во всех образцах в период с 1 по 9 сутки культивирования наблюдалось снижение синтезирующей активности. Так, на 9 сутки продукция альбумина составила 8,7 мг/млн кл/сут, мочевины – $2,48 \pm 0,13$ мкг/млн кл/сут.



a) *б)*

Рисунок 1 – Внешний вид ТИК печени (*a*); гистологическая картина ТИК, окраска среза гематоксилин-эозином (*б*)

Для изучения метаболизирующей функции ТИК проводили определение изменения концентрации цитохрома СYP2E1 в лизате клеточного компонента ($n = 6$) после нагрузки этанолом в концентрации 1г/л. Так, у интактных образцов клеточного компонента ТИК ($n = 6$) концентрация цитохрома составила $18,3 \pm 1,2$ нг из расчета на 1 млн. кл., в клеточной культуре после 24 часового воздействия этанолом концентрация СYP2E1 составила $19,8 \pm 1,4$ нг, что свидетельствует об активации монооксигеназной системы клеточного компонента ТИК.

Таким образом, собранные ТИК обладали способностью продуцировать альбумин и мочевины на протяжении 9 суток с тенденцией постепенного снижения синтетической активности и в ответ на стимуляцию этанолом усиливали экспрессию СYP2E1.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант № М23М-037 от 02.05.2023 г.

Список использованных источников

1. Иванов, А.А. Стратегии выбора и использования скаффолдов в биоинженерии / А.А. Иванов, О.П. Попова, Т.И. Данилова, А.В. Кузнецова // Успехи современной биологии, 2019. – Т. 139, № 2. – С. 196–205.
2. Дубко, А.Д. Получение цельноорганный скаффолда печени крысы / А.Д. Дубко, М.Ю. Юркевич, М.В. Лобай, А.В. Свирская, Н.Г. Юханов, Т.В. Савицкая, Д.Б. Нижегородова, М.М. Зафранская // Докл. НАН РБ, 2021. – Т. 65, № 4. – С. 461–468.