

ОБЗОРЫ

УДК 606:616-089.819.843

Н.И. Арсентьева, М.А. Макарова, М.Л. Арсентьева

РАЗРАБОТКА КЛЕТОЧНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ
И ОПЫТ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ПАТОЛОГИЯХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», Иркутск, Россия

В статье авторы подводят итоги работ экспериментальной направленности в Иркутском научном центре хирургии и травматологии, которые касаются клеточных биотехнологий. В процессе экспериментальной работы были предложены новые оригинальные клеточные технологии, которые позволят экспериментаторам получить клеточный материал для коррекции различных патологических состояний. По результатам этих работ в центре защищено 5 докторских и 9 кандидатских диссертаций.

Ключевые слова: клеточные биотехнологии, трансплантация, патология

DEVELOPMENT OF CELL TECHNOLOGIES AND OUR EXPERIENCE
OF USING THEM AT THE PATHOLOGIES IN EXPERIMENT

N.I. Arsentyeva, M.A. Makarova, M.L. Arsentyeva

Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russia

Development of modern cell biotechnologies provides fundamental basis for the solution of many problems of modern medicine. The result of experimental researches showed huge opportunities offered by using cell biotechnologies. Group of cell technologies as part of the laboratory of experimental surgery of East Siberian Scientific Center SB RAMS (ESSC SB RAMS) opened in 1996 had a purpose to develop new technologies on the basis of method of cell biotechnologies. Employees of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology developed original cell technologies that allowed to prepare cell material for the correction of pathological process in animal experiments. Technology of preparation of isolated liver cells, isolated and cultivated spleen cells, Langerhans islets, long-term cryopreservation of prepared material allows to create reserve supplies to use them as required. Using xenogenic biomaterial has some advantages over using allogenic biomaterial – such as availability, opportunity for precise research of the donor, prevention of contamination of the recipient with different infections, absence of “law factor”.

Key words: cell biotechnologies, transplantation, pathology

Группа клеточных технологий была сформирована в 1996 году на базе лаборатории экспериментальной хирургии научно-исследовательского института хирургии ВСНЦ СО РАМН. Целью ее создания была разработка новых технологий и лекарственных препаратов на основе методов биотехнологии.

Регенеративная (восстановительная) медицина с использованием клеточных технологий активно развивается. Указом Президента Российской Федерации № 899 от 7 июля 2011 г. утвержден Перечень критических технологий Российской Федерации, где отдельным пунктом № 6 выделены клеточные технологии.

Сотрудниками Иркутского научного центра хирургии и травматологии (ИНЦХТ) разработаны оригинальные клеточные технологии, позволяющие получать клеточный материал, который был применен для коррекции патологических процессов в эксперименте на животных [1, 5, 10].

Установлена высокая эффективность разработанных технологий выделения, криоконсервации и культивирования эмбриональных и неонатальных клеток печени и селезенки свиньи, обеспечивающих достоверно высокий выход клеток, высокий уровень

жизнеспособных клеток после длительного (до 6 месяцев) хранения и устранение гибели клеток после размораживания без замены среды [5].

Предложенные клеточные технологии позволяют получать клеточный материал с высокой степенью жизнеспособности и низкой иммуногенностью: разработана оригинальная среда криоконсервации островковых клеток Лангерганса. Предложенная среда обеспечивает высокую жизнеспособность ($88,2 \pm 1,2$ %) островковых клеток Лангерганса при длительном (6 мес.) хранении в замороженном состоянии. При использовании среды-аналога через 6 месяцев хранения жизнеспособность клеток составила $62,8 \pm 0,9$ %, при этом отсутствует слипание клеток, упрощается методика приготовления клеток к трансплантации, так как не требуется удаление среды криоконсервации, и, тем самым, снижается травмирование клеток.

Разработана технология выделения, культивирования и криоконсервации неонатальных клеток селезенки свиньи, позволяющая получать ассоциированную культуру ретикулоцитов и лимфоцитов с содержанием $4,6 (4,1-4,8) \times 10^7$ клеток в 1 мл взвеси и показателем жизнеспособности $98,2 (97,8-98,5)$ %

после 6-месячной криоконсервации. Применение предложенной технологии позволяет получать ассоциированную культуру гепатоцитов и непаренхиматозных клеток с выходом $2,9 (2,4-3,1) \times 10^7$ клеток в 1 мл взвеси и высоким показателем жизнеспособности – 86,9 (83,8–89,0) % после длительной криоконсервации [13, 19, 20, 21].

Для улучшения приживления трансплантированных ксеногенных клеток была разработана технология микроинкапсулирования жизнеспособных клеток и тканей. Разработано устройство для микроинкапсулирования жизнеспособных клеток и тканей, содержащее емкость, на дистальном конце которой выполнено калиброванное отверстие, и воздушную камеру, соединенную с компрессором. Главное отличие от имеющихся устройств – емкость соединена с компрессором через регулятор давления, дистальный конец емкости размещен в воздушной камере и с 4 сторон фиксирован винтами, установленными в дистальном отделе воздушной камеры, которая выполнена в виде ресивера и соединена с компрессором через регулятор давления и ротаметр. Калиброванное отверстие емкости размещено в воздушной камере, напротив которого в емкости установлена форсунка, при этом ось калиброванного отверстия емкости совмещена с осью отверстия форсунки [25].

Для повышения качества клеточных культур был разработан способ оценки жизнеспособности культивируемых эмбриональных клеток печени, включающий определение продуктов их жизнедеятельности в среде культивации, отличающийся тем, что определяют в динамике содержание регуляторного пептида HGF в среде культивации, по величине которого оценивают жизнеспособность культивируемых клеток [16].

В процессе культивирования эмбриональных и неонатальных клеток печени или селезенки свиньи происходит закономерное увеличение концентрации фактора роста гепатоцитов в среде культивирования, достигающее максимума на 5-е сутки. При этом содержание HGF в культуре клеток печени увеличивается в 3,5 раза, а в культуре клеток селезенки – в 225 раз. Повышение уровня фактора роста гепатоцитов в процессе культивирования клеточной ассоциации служит показателем пригодности материала для трансплантации.

Предложенный способ оценки жизнеспособности культивируемых клеток печени позволяет точно установить сроки максимальной готовности их к трансплантации. Способ также позволяет стандартизировать клетки по содержанию HGF в среде культивации.

В эксперименте на кроликах воспроизведена модель пострезекционной гипергликемии путем удаления поджелудочной железы, и на этой модели проведено сравнительное изучение эффективности коррекции возникающих в организме нарушений, осуществляемой путём трансплантации взвеси островковых клеток поджелудочной железы свиньи.

Трансплантация островков Лангерганса позволила добиться 70%-й выживаемости экспериментальных животных после панкреатэктомии, в то время как

летальность в группе контроля составила 100 %. Внутривенная трансплантация клеток за 96 часов до операции способствовала коррекции пострезекционной гипергликемии вследствие панкреатэктомии и обеспечила полную инсулинонезависимость животных на протяжении всего эксперимента до 14-х суток исследования. На модели пострезекционной гипергликемии установлено, что криоконсервированная культура неонатальных клеток поджелудочной железы свиньи, пересаженная внутривенно кролику, частично выживает к 7-м и 14-м суткам после трансплантации соответственно [18]. Лейкоцитарная инфильтрация зон ксенотрансплантации отсутствует, а структура трансплантата соответствует классическим описаниям перенесенной ткани при свободной алло- и аутоотрансплантации. Это свидетельствует о высокой жизнеспособности и минимальной иммуногенности клеточного материала, полученного с применением разработанных технологий.

Изучены соотношения субпопуляций Т-лимфоцитов в периферической крови и в костном мозге после аспленизации в условиях введения моноклеарной фракции костного мозга и культуры клеток селезенки. Проведена оценка степени компенсации постспленэктомического иммунодефицита аллотрансплантацией иммунокомпетентных клеток. Исследована возможность приживления опухолевых клеток человека у крысы в условиях постспленэктомического иммунодефицита.

Аспленизация животных приводит к развитию иммунодефицита, что проявляется снижением количества Т-зрелых лимфоцитов и Т-хелперов, увеличением цитотоксических супрессорных клеток, угнетением показателей неспецифической резистентности организма [4].

В качестве наиболее оптимального способа введения суточной культуры аллогенной моноклеарной фракции костного мозга нами был установлен внутривенный, поскольку при этом способе введения был отмечен наименьший процент летальности среди экспериментальных животных.

Аллотрансплантация культуры моноклеарных клеток костного мозга способствует предупреждению иммунных нарушений после аспленизации в раннем послеоперационном периоде со снижением уровня летальности до 41,6 %, снижением лейкоцитоза и нормализацией количества лейкоцитов и форменных элементов крови к 21-м суткам исследования. Показано, что трансплантация моноклеарных клеток костного мозга способствует активации неспецифической резистентности и активации фагоцитоза [14, 15].

В эксперименте на крысах воспроизведена модель острой печеночной недостаточности воспалительного генеза, вызванного аспленизацией, и на этой модели установлена эффективность коррекции острой печеночной недостаточности с помощью трансплантации культуры клеток печени, а также культуры клеток селезенки. При сравнительном исследовании корригирующих эффектов трансплантации клеток печени, селезенки и введении экзогенного фактора роста гепатоцитов установлено совпадение

их терапевтических эффектов при острой печеночной недостаточности. Экспериментально доказана эффективность коррекции печеночной недостаточности токсического и воспалительного генеза с помощью трансплантации культуры эмбриональных клеток печени и неонатальных клеток селезенки как продуцентов фактора роста гепатоцитов [5, 6, 9].

Установлена эффективность коррекции пострезекционной печеночной недостаточности при использовании неонатальных гепатоцитов [12, 17].

Разработан алгоритм коррекции острой печеночной недостаточности клетками печени и селезенки в зависимости от ее генеза. На модели острой печеночной недостаточности, вызванной а) острым токсическим повреждением, б) обширной резекцией или в) воспалительным повреждением печени вследствие аспленизации, установлено, что криоконсервированная культура клеток печени и селезенки свиньи, пересаженная под кожу крысе, частично выживает к 6-м, 11-м и 21-м суткам после трансплантации соответственно. Лейкоцитарная инфильтрация зон ксенотрансплантации отсутствует, а структура трансплантата соответствует классическим описаниям перенесенной ткани при свободной алло- и аутоотрансплантации. Это свидетельствует о высокой жизнеспособности и минимальной иммуногенности клеточного материала, полученного с применением разработанных технологий.

Ксенотрансплантация культуры клеток печени и селезенки при печеночной недостаточности на фоне острого токсического повреждения печени является эффективным методом снижения летальности и ограничения цитолитического и холестатического синдромов, системной воспалительной реакции, расстройств белково-синтетической функции. Морфологическим эквивалентом выявленных эффектов ксенотрансплантации оказывается восстановление и сохранность балочной структуры с преобладанием неповрежденных гепатоцитов, уменьшение жировых включений, увеличение количества непаренхиматозных клеток печени [7, 8, 9, 24].

Аллогенная трансплантация гепатоцитов является эффективным биотехнологическим методом в коррекции ключевых звеньев атерогенного процесса: гиперхолестеринемии, процессов перекисного окисления липидов, гемокоагуляционных нарушений. Трансплантация аллогенных неонатальных гепатоцитов способствует снижению коэффициента атерогенности и уменьшению интенсивности процессов перекисного окисления липидов в крови животных с экспериментальной гиперхолестеринемией.

У животных с экспериментальной гиперхолестеринемией при трансплантации аллогенных неонатальных гепатоцитов уменьшается агрегационная способность тромбоцитов, снижается активность антитромбина III, активизируются фибринолитические свойства крови.

В условиях экспериментальной гиперхолестеринемии у животных с трансплантацией аллогенных неонатальных гепатоцитов уменьшается площадь липидной инфильтрации аорты, снижается количество захваченных атерогенным процессом коронарных

сосудов и степень сужения их внутреннего диаметра; уменьшается степень липоидоза печени [23].

Внутрипеченочная трансплантация аллогенных неонатальных гепатоцитов у животных с экспериментальной гиперхолестеринемией способствует более эффективному снижению коэффициентов атерогенности (на 6,0 %), перекисидации (на 29,6 %), уменьшению площади липидной инфильтрации аорты (на 56,4 %), количества коронарных сосудов, вовлеченных в атерогенный процесс (на 59,0 %), снижению степени липоидоза печени (на 46,8 %), в сравнении с внутривенной трансплантацией [22].

Применение ксеногенного биоматериала (клеток печени и селезенки свиньи) имеет ряд преимуществ перед аллогенным – доступность, возможность скрупулезного исследования донора, предотвращение заражения реципиента различными инфекциями, отсутствие «юридического» фактора. Технология получения изолированных клеток печени, изолированных и культивированных клеток селезенки, островков Лангерганса, длительная криоконсервация выделенного материала позволяет создавать резервные запасы для использования их по требованию.

Осмысление результатов исследований позволяет выделить три уровня саногенного воздействия клеток при ксенотрансплантации:

1. Воздействие биологически активных веществ эмбриональных клеток. Патогенетическое обоснование клеточной терапии было проведено в НЦРВХ СО РАМН группой профессора А.А. Руновича на модели коронарного атеросклероза [1, 2, 3, 22]: убедительно показано, что продукты клеточного распада и компоненты трансплантата обладают широким спектром саногенных эффектов, в том числе на печеночную дисфункцию [11].

2. Непосредственное воздействие органоспецифических клеток – «метаболическая поддержка» [5] – широко представлено в литературе и воспроизведено в работах по трансплантации некультивированных (выделенных) гепатоцитов, клеток селезенки, клеток островков Лангерганса. Саногенные эффекты второго уровня особенно ярко проявлялись на модели пострезекционной печеночной недостаточности, когда пусковым механизмом является критическое снижение массы функционирующих гепатоцитов [17].

3. Наконец третьим, высшим, уровнем влияния характеризуется трансплантация культуры клеток, которая дополняет первые два механизма новым – воздействием продуктов жизнедеятельности клеточной кооперации, а именно внеклеточных регуляторных пептидов. Выработка этих веществ требует взаимодействия между клетками, компонентами внеклеточного матрикса и т. д., что изменяет свойства клеточного материала за счет оптимизации условий для выживания, дифференцировки и пролиферации [5, 17].

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Бабушкина И.В., Курильская Т.Е., Ильина О.П., Боровский Г.Б., Пивоваров Ю.И. Внутриклеточная защита миокарда и трансплантация сердечных клеток

// Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2011. – № 8. – С. 185–189.

Babushkina IV, Kurilskaya TE, Iljina OP, Borovskiy GB, Pivovarov YI (2011). Intracellular myocardium defense and transplantation of cardio cells [Vnutrikletochnaja zashhita miokarda i transplantacija serdechnyh kletok]. *Vestnik Krasnojarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 8, 185–189.

2. Бабушкина И.В., Курильская Т.Е., Пивоваров Ю.И. и др. Воздействие модифицированного клеточного трансплантата на течение адреналинового повреждения миокарда // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 5 (75). – С. 217–221.

Babushkina IV, Kurilskaya TE, Pivovarov YI et al. (2010). Influence of modifies cell transplant on the course of adrenal myocardial injury [Vozdejstvie modifitsirovannogo kletochnogo transplantata na techenie adrenalinovogo povrezhdenija miokarda]. *Bjull. VSNЦ SO RAMN*, 5 (75), 217–221.

3. Богородская С.Л., Клинова С.Н., Голубев С.С., Зарицкая Л.В. и др. АТФ-азная активность и уровень ионов в сердечной ткани при экспериментальном адреналиновом повреждении и проведении клеточной трансплантации // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2010. – Т. 97, № 6. – С. 158–160.

Bogorodskaya SL, Klinova SN, Golubev SS, Zaritskaya LV et al. (2010). ATP activity and level of ions in cardiac tissue at the experimental adrenal injury and cell transplantation [ATF-aznaja aktivnost' i uroven' ionov v serdechnoj tkani pri jeksperimental'nom adrenalinovom povrezhdenii i provedenii kletochnoj transplantacii]. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk)*, 97 (6), 158–160.

4. Каргин А.Г., Рой Т.А., Апарцин К.А., Зарицкая Л.В. и др. Развитие иммунодефицита вследствие аспленизации // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2009. – Т. 90, № 7. – С. 100–101.

Kargin AG, Roy TA, Apartsin KA, Zaritskaya LV et al. (2009). Immune deficiency caused by asplenization [Razvitie immunodeficyta vsledstvie asplenizacii]. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk)*, 90 (7), 100–101.

5. Лепехова С.А. Саногенез печеночной недостаточности под влиянием ксенотрансплантации клеток печени и селезенки: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Лепехова Светлана Александровна. – Иркутск, 2010. – 47 с.

Lepekhova SA (2010). Sanogenesis of liver insufficiency under the influence of xenotransplantation of liver and spleen cells: Abstract of Dissertation of Doctor of Biological Sciences [Sanogenez pechenochnoj nedostatochnosti pod vlijaniem ksenotransplantacii kletok pecheni i selezenki: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk], 47.

6. Лепехова С.А., Апарцин К.А., Гольдберг О.А., Галеев Ю.М. и др. Воспалительное повреждение печени в раннем послеоперационном периоде на фоне аспленизации животных // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2009. – № 1. – С. 6–11.

Lepekhova SA, Apartsin KA, Goldberg OA, Galeev YM et al. (2009). Inflammatory liver injury in early postoperative period associated with asplenization of the animals [Vospalitel'noe povrezhdenie pecheni v rannem posleoperacionnom periode na fone asplenizacii

zhivotnyh]. *Vestnik Burjatskoj gosudarstvennoj sel'skhozajstvennoj akademii im. V.R. Filippova*, 1, 6–11.

7. Лепехова С.А., Апарцин К.А., Зарицкая Л.В., Постовая О.Н. и др. Влияние ксенотрансплантации культуры клеток печени на изменения неспецифической резистентности организма при остром токсическом повреждении печени // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2009. – Т. 90, № 7. – С. 101–104.

Lepekhova SA, Apartsin KA, Zaritskaya LV, Postovaya ON et al. (2009). Influence of xenotransplantation of liver cell culture on the changes of non-specific resistance of an organism at the acute toxic injury of liver [Vlijanie ksenotransplantacii kul'tury kletok pecheni na izmenenija nespecificheskoj rezistentnosti organizma pri ostrom toksicheskom povrezhdenii pecheni]. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk)*, 90 (7), 101–104.

8. Лепехова С.А., Апарцин К.А., Прокопьев М.В., Гольдберг О.А. Экспериментальное исследование эффектов ксенотрансплантации клеток печени // Анналы хирургической гепатологии. – 2006. – Т. 11, № 3. – С. 49.

Lepekhova SA, Apartsin KA, Prokopyev MV, Goldberg OA (2006). Experimental research of the effects of xenotransplantation of liver cells [Jeksperimental'noe issledovanie jeffektov ksenotransplantacii kletok pecheni]. *Annaly hirurgicheskoj gepatologii*, 11 (3), 49.

9. Лепехова С.А., Гольдберг О.А., Апарцин К.А., Прокопьев М.В. Дифференцированный подход к клеточной коррекции острой печеночной недостаточности при остром токсическом повреждении, морфологическое обоснование выбора способа лечения // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 2 (90), Ч. 1. – С. 128–132.

Lepekhova SA, Goldberg OA, Apartsin KA, Prokopyev MV (2013). Differentiated approach to cell correction of acute liver failure at the acute toxic injury, morphological grounding for choosing method of treatment [Differencirovannyj podhod k kletochnoj korrekcii ostroj pechenochnoj nedostatochnosti pri ostrom toksicheskom povrezhdenii, morfologicheskoe obosnovanie vybora sposoba lechenija]. *Bjull. VSNЦ SO RAMN*, 2-1 (90), 128–132.

10. Органосохраняющая хирургия селезенки / под ред. Е.Г. Григорьева, К.А. Апарцина. – Новосибирск: Наука, 2001. – 400 с.

Grigoriev EG, Apartsin KA (eds.) (2001). Organ-preserving spleen surgery [Organosohranjajushhaja hirurgija selezenki], 400.

11. Пивоваров Ю.И., Курильская Т.Е., Сергеева А.С. и др. Саногенетические механизмы действия трансплантации целых клеток и их ядерной фракции на модели экспериментальной дислипидемии // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 6. – С. 23–29.

Pivovarov YI, Kurilskaya TE, Sergeeva AS et al. (2011). Sanogenetic mechanisms of an action of transplantation of whole cells and their nuclear fraction on the model of experimental dislipidemy [Sanogeneticheskie mehanizmy dejstvija transplantacii celyh kletok i ih jadernoj frakcii na modeli jeksperimental'noj dislipidemii]. *Bjulleten' sibirskoj mediciny*, 6, 23–29.

12. Плеханов А.Н., Товаршинов А.И., Лепехова С.А. Применение изолированных ксеногенных клеток

печени при моделированной острой печеночной недостаточности, вызванной резекцией печени в эксперименте // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2002. – № 2. – С. 62–63.

Plekhanov AN, Tovarshinov AI, Lepekhova SA (2002). Using isolated xenogenic liver cells at the induced acute liver failure caused by liver resection in experiment [Primenenie izolirovannyh ksenogennyh kletok pecheni pri modelirovannoj ostroj pechenochnoj nedostatochnosti, vyzvannoj rezekciej pecheni v jeksperimente]. *Bjull. VSNC SO RAMN*, 2, 62–63.

13. Прокопьев М.В., Лепехова С.А., Зарицкая Л.В., Постовая О.Н. и др. Оценка функционального состояния клеток селезенки после криоконсервации // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2001. – Т. 2, № 3. – С. 100.

Prokopyev MV, Lepekhova SA, Zaritskaya LV, Postovaya ON et al. (2001). Evaluation of functional state of spleen cells after cryopreservation [Ocenka funkcional'nogo sostojaniya kletok selezenki posle kriokonservacii]. *Bjull. VSNC SO RAMN*, 2 (3), 100.

14. Способ коррекции иммунных нарушений: пат. 2488356 Рос. Федерация: МПК А61В17/00, А61К35/28, А61Р37/02, G09В23/28 / Лепехова С.А., Каргин А.Г., Гольдберг О.А., Апарцин К.А., Прокопьев М.В., Батунова Е.В.; заявитель и патентообладатель НЦРВХ СО РАМН. – № 2012107519; заявл. 28.02.2012; опублик. 27.07.2013, Бюл. 21. – 8 с.

Lepekhova SA, Kargin AG, Goldberg OA, Apartsin KA, Prokopyev MV, Batunova EV (2013). Method of correction of immune disorders: Patent of Russian Federation 2488356 [Sposob korrekcii immunnyh narushenij: pat. 2488356 Ros. Federacija], 21, 1.

15. Способ моделирования аденокарциномы толстой кишки человека: пат. 2457546 Рос. Федерация: МПК G09В23/28 / Лепехова С.А., Гольдберг О.А., Рой Т.А., Апарцин К.А., Каргин А.Г., Чашкова Е.Ю., Кувшинов А.Г.; заявитель и патентообладатель НЦРВХ СО РАМН. – № 2011108850/14; заявл. 09.03.2011; опублик. 27.07.2012, Бюл. № 21. – 10 с.

Lepekhova SA, Goldberg OA, Roy TA, Apartsin KA, Kargin AG, Chashkova EY, Kuvshinov AG (2012). Method of modelling adenocarcinoma of colon in human: Patent of Russian Federation 2457546 [Sposob modelirovaniya adenokarcinomy tolstoj kishki cheloveka: pat. 2457546 Ros. Federacija], 21, 10.

16. Способ оценки жизнеспособности культивируемых эмбриональных клеток печени: пат. 2366704 Рос. Федерация: МПК C12N5/00, C12N5/06, C12N5/08 / Лепехова С.А., Апарцин К.А., Прокопьев М.В., Гольдберг О.А., Кравченко А.А., Каргин А.Г., Боровский Г.Б., Никифоров С.Б.; заявитель и патентообладатель НЦРВХ ВСНЦ СО РАМН. – № 2007145007/13; заявл. 03.12.2007; опублик. 10.09.2009, Бюл. № 25. – 5 с.

Lepekhova SA, Apartsin KA, Prokopyev MV, Goldberg OA, Kravchenko AA, Kargin AG, Borovskiy GB, Nikiforov SB (2009). Method of evaluation of viability of cultivated embryonic cells of liver: Patent of Russian Federation 2366704 [Sposob ocenki zhiznesposobnosti kul'tiviruemyh jembrional'nyh kletok pecheni: pat. 2366704 Ros. Federacija], 25, 5.

17. Способ пострезекционной регенерации печени в эксперименте: пат. 2232550 Рос. Федерация:

МПК А61В17/00, А61К35/407 / Чикотеев С.П., Плеханов А.Н., Товаршинов А.И., Гольдберг О.А., Лепехова С.А., Корнилов Н.Г.; заявители и патентообладатели Плеханов А.Н., Товаршинов А.И. – № 2002119986/14; заявл. 22.07.2002; опублик. 20.07.2004, Бюл. № 20. – 4 с.

Chikoteev SP, Plekhanov AN, Tovarshinov AI, Goldberg OA, Lepekhova SA, Kornilov NG (2004). Method of post-resection regeneration of liver in the experiment: Patent of Russian Federation 2232550 [Sposob postrezekcionnoj regeneracii pecheni v jeksperimente: pat. 2232550 Ros. Federacija], 20, 4.

18. Способ предупреждения пострезекционной гипергликемии в эксперименте: пат. 2354393 Рос. Федерация: МПК А61К35/39, А61Р5/50, G09В23/28 / Чикотеев С.П., Арбошкин В.А., Ильичева Е.А., Лепехова С.А., Кравченко А.А., Гольдберг О.А.; заявитель и патентообладатель НЦРВХ ВСНЦ СО РАМН. – № 2007127281/14; заявл. 16.07.2007; опублик. 10.05.2009, Бюл. № 13. – 4 с.

Chikoteev SP, Arboshkin VA, Iljicheva EA, Lepekhova SA, Kravchenko AA, Goldberg OA (2009). Method of prevention of post-resection hyperglycemia in the experiment: Patent of Russian Federation 2354393 [Sposob preduprezhdeniya postrezekcionnoj gipereglikemii v jeksperimente: pat. 2354393 Ros. Federacija], 13, 4.

19. Среда для консервации клеток островков Лангерганса: пат. 2290433 Рос. Федерация: МПК C12N1/04, C12N5/08 / Лепехова С.А., Ким А.Ю., Кравченко А.А., Апарцин К.А., Гольдберг О.А., Прокопьев М.В.; заявитель и патентообладатель НЦРВХ ВСНЦ СО РАМН. – № 2005100480/13; заявл. 11.01.2005; опублик. 27.12.2006, Бюл. № 36. – 6 с.

Lepekhova SA, Kim AY, Kravchenko AA, Apartsin KA, Goldberg OA, Prokopyev MV (2006). Medium for conservation of Langerhans islet cells: Patent of Russian Federation 2290433 [Sreda dlja konservacii kletok ostrovkov Langergansa: pat. 2290433 Ros. Federacija], 36, 6.

20. Среда для консервации клеток печени: пат. 2161198 Рос. Федерация: МПК C12N5/00, C12N5/08, C12N1/04 / Лепехова С.А., Гольдберг О.А.; заявитель и патентообладатель НЦРВХ ВСНЦ СО РАМН. – № 98117042/13; заявл. 07.09.1998; опублик. 27.12.2000, Бюл. № 36. – 4 с.

Lepekhova SA, Goldberg OA (2000). Medium for conservation of liver cells: Patent of Russian Federation 2161198 [Sreda dlja konservacii kletok pecheni: pat. 2161198 Ros. Federacija], 36, 4.

21. Среда для консервации клеток селезенки: пат. 2194753 Рос. Федерация: МПК C12N5/00, C12N5/06, C12N1/04 / Лепехова С.А., Прокопьев М.В., Апарцин К.А., Гольдберг О.А.; заявитель и патентообладатель НЦРВХ ВСНЦ СО РАМН. – № 2001101802/13; заявл. 18.01.2001; опублик. 20.12.2002, Бюл. № 35. – 5 с.

Lepekhova SA, Prokopyev MV, Apartsin KA, Goldberg OA (2002). Medium for conservation of spleen cells: Patent of Russian Federation 2194753 [Sreda dlja konservacii kletok selezenki: pat. 2194753 Ros. Federacija], 35, 5.

22. Судаков Н.П. Влияние трансплантации аллогенных неонатальных гепатоцитов на развитие экспериментальной гиперхолестеринемии: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Судаков Николай Петрович. – Иркутск, 2004. – 22 с.

Sudakov NP (2004). Influence of transplantation of allogenic neonatal hepatocytes on the development of experimental hypercholesterolemia: Abstract of Dissertation of Candidate of Medical Sciences [Vlijanie transplantacii allogennyh neonatal'nyh gepatocitov na razvitie jeksperimental'noj giperholesterinemii: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk], 24.

23. Судаков Н.П., Новикова М.А., Никифоров С.Б., Клименков И.В. и др. Структурно-функциональные нарушения митохондрий печени при атеросклерозе в эксперименте // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. – 2008. – Т. 1, № 2. – С. 15–19.

Sudakov NP, Novikova MA, Nikiforov SB, Klimenkov IV et al. (2008). Structural and functional disorders of liver mitochondria at atherosclerosis in the experiment [Strukturno-funkcional'nye narusheniya mitohondrij pecheni pri ateroskleroze v jeksperimente]. *Izvestija Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Biologija. Jekologija*, 1 (2), 15–19.

24. Товаршинов А.И., Плеханов А.Н., Лепехова С.А., Гольдберг О.А. Экспериментальное обо-

снование эффективности использования криоконсервированных ксеногепатоцитов при печеночной недостаточности // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2002. – Т. 1, № 5. – С. 104–107.

Tovarshinov AI, Plekhanov AN, Lepekhova SA, Goldberg OA (2002). Experimental grounding of the effectiveness of using cryopreserved xenohepatocytes at liver failure [Jeksperimental'noe obosnovanie jeffektivnosti ispol'zovanija kriokonservirovannyh ksenogepatocitov pri pechenochnoj nedostatochnosti]. *Bjull. VSNC SO RAMN*, 1 (5), 104–107.

25. Устройство для микроинкапсулирования жизнеспособных клеток и тканей: пат. 2366696 Рос. Федерация: МПК C12M3/00 / Лепехова С.А., Ким А.Ю., Кравченко А.А., Батракс А.Э.; заявитель и патентообладатель Лепехова С.А. – № 2007126189/13; заявл. 09.07.2007; опубл. 10.09.2009, Бюл. № 25. – 7 с.

Lepekhova SA, Kim AY, Kravchenkov AA, Batraks AE (2009). Device for microencapsulation of viable cells and tissues: Patent of Russian Federation 2366696 [Ustrojstvo dlja mikroinkapsulirovanija zhiznesposobnyh kletok i tkanej: pat. 2366696 Ros. Federacija], 25, 7.

Сведения об авторах Information about the authors

Арсентьева Наталия Ивановна – кандидат биологических наук, доцент, ученый секретарь Иркутского научного центра хирургии и травматологии (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-39; e-mail: scrrs.irk@gmail.com)
Arsentyeva Natalia Ivanovna – Candidate of Biological Sciences, Docent, Academic Secretary of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolutsii, 1; tel.: +7 (3952) 29-03-39; e-mail: scrrs.irk@gmail.com)

Макарова Маргарита Арсентьевна – заведующая научно-учебно-организационным отделом Иркутского научного центра хирургии и травматологии
Makarova Margarita Arsentyevna – Head of Scientific, Training and Organizational Department of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology

Арсентьева Мария Леонидовна – ведущий редактор редакционно-издательского отдела Иркутского научного центра хирургии и травматологии
Arsentyeva Maria Leonidovna – Senior Scientific Editor of Editorial and Publishing Department of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology