

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

УДК 616.36-008.64

Х.П. Монголов, А.Н. Плеханов, А.И. Товаршинов

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ:
ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К КЛИНИКЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)ГП РБ «Бурят-Фармация» (Улан-Удэ)
Бурятский филиал НЦРВХ СО РАМН (Улан-Удэ)

В настоящем обзоре освещаются успехи использования для профилактики и лечения острой печеночной недостаточности алло- и ксеногенных гепатоцитов донора, а также указываются существующие в настоящее время проблемы трансплантации гепатоцитов и других клеток печени.

Ключевые слова: гепатоциты, печеночная недостаточность, лечение

TRANSPLANTATION HEPATOCYTES AT HEPATIC INSUFFICIENCY: FROM EXPERIMENT
TO CLINIC (LITERATURE REVIEW)

H.P. Mongolov, A.N. Plekhanov, A.I. Tovarshinov

GP RB «Buryat-Pharmacy» (Ulan-Ude)
Buryat Branch of SC RRS SB RAMS (Ulan-Ude)

This article describes successful application of donor's allo- and xenogenic isolated hepatocytes for prevention and treatment of hepatic insufficiency. The article also points at present-day problems concerning transplantation of hepatocytes and other hepatic cells.

Key words: hepatocytes, hepatic failure, treatment

Известно, что печеночная недостаточность может осложнять течение не только заболеваний гепато-панкреатодуоденальной зоны, но и других органов и систем организма. Имеется описание случаев молниеносной печеночной недостаточности при миллиарном туберкулезе, раке легкого, болезни Альцгеймера и другой патологии [33].

По данным ВОЗ, смертность от хронической печеночной недостаточности, занимает пятое место среди других заболеваний, а от острой печеночной недостаточности (ОПН) достигает 70–90% [25, 30]. Клиническое применение традиционных методов временной поддержки функции печени (гемодиализ и перитонеальный диализ, перекрестное кровообращение с человеком или бабуином, экстракорпоральное подключение гомо- и гетеропечени, плазмаферез, гемосорбция, лимфосорбция, обменное переливание крови и плазмы и др.) не всегда приносит желаемые результаты.

По мнению ряда исследователей [7, 12, 48], наиболее перспективным направлением в лечении печеночной недостаточности является трансплантация изолированных ксено- или аллогепатоцитов.

Принципиально трансплантация гепатоцитов близка к вспомогательной трансплантации доли печени и отличается от нее технической простотой вмешательства, экономным расходом материала, использованием криоконсервированных клеток. Она может рассматриваться как вспомога-

тельный метод подготовки пациента к ортотопической трансплантации печени [9]. В США ежегодно около 5000 человек нуждаются в трансплантации печени по тем или другим причинам, но менее чем четверти таких больных выполняют спасительную операцию. Остальные пациенты, находящиеся в «листе ожидания», умирают из-за отсутствия совместимой донорской печени [53]. В Германии, Англии, Франции в год около 15000 пациентов умирают, не дождавшись операции [47]. Дефицит качественных донорских органов, рост числа пациентов в «листе ожидания», большая стоимость операций, разнообразные послеоперационные осложнения заставляют университеты и фирмы заниматься трансплантацией гепатоцитов как альтернативным методом пересадки целого органа.

Как известно, гепатоциты составляют 90–95% массы и 2/3 объема популяции клеток печени. В них содержится 98% митохондрий печени, поэтому в энергетическом и функциональном отношении они наиболее важны в метаболизме органа [4].

В настоящее время не существует общепринятой методики получения изолированных гепатоцитов. Методы получения изолированных печеночных клеток предусматривают двухэтапную перфузию с целью разрушения межклеточных контактов [40]. Оценка жизнеспособности изолированных клеток печени по окраске трипановым синим, основанная на проникновении красителя через поврежденную клеточную мембрану, пока-

зала, что количество жизнеспособных гепатоцитов стабильно составляет 60–80 % [37].

В эксперименте и в клинике было доказано, что белково-синтетическая функция печени также сохранялась в изолированных гепатоцитах. Так, после их инкубации в течение 7 суток в альгинате кальция были выявлены синтез и секреция протромбина, плазменного протеина, холестерина, ацилтрансферазы и холинэстеразы [11]. Также отмечена способность культивируемых гепатоцитов синтезировать ДНК и α -фетопротеин [4].

Результаты исследований показали, что трансплантированные гепатоциты включаются в метаболические и детоксицирующие процессы [21], нормализуют биохимические показатели, снижают деструкцию в органе, а также благоприятствуют развитию репаративных процессов в печени реципиента. Это достигается путем изменения гуморальных и молекулярных механизмов за счет секреции факторов пролиферации, что также является критерием оценки функциональной активности изолированных гепатоцитов [51]. Важным в познании природы синтеза фактора роста явился факт взаимодействия не паренхиматозных клеток печени с гепатоцитами при совместной их культивации [31].

Исследователями была произведена оценка жизнеспособности изолированных гепатоцитов на основании общепринятых морфологических и биохимических тестов. При этом они вводили взвесь печеночных клеток внутрисосудисто и внутрибрюшинно крысам с моделированной острой печеночной недостаточностью [2].

При исследовании функциональной активности полученных изолированных клеток была выявлена высокая скорость эндогенного дыхания, подтверждающая сохранившиеся энергетические и функциональные свойства гепатоцитов [5]. При инкубации изолированные клетки были способны потреблять O_2 , синтезировать глюкозу из лактата, конъюгировать свободный билирубин, связывать аммиак с последующим превращением его в мочевины, синтезировать и накапливать гликоген, связывать кортикостероиды и фенобарбитал цитохромом P-450 (т.е. биотрансформировать ксенобиотики), производить кетоновые тела из жирных кислот. Кроме того, содержание адениловых нуклеотидов в изолированных гепатоцитах было выше, чем в изолированной перфузируемой печени [6, 19].

Как *in vivo*, так и *in vitro* зарегистрирован детоксицирующий эффект суспензии микросомальных ферментов, полученной из изолированных гепатоцитов. Ферментативная оксидация позволила превратить высокотоксичный жирорастворимый эндотоксин диметилсульфоксид в нетоксичное водорастворимое соединение этилметилсульфида и диметилсульфида, а также отмечена глюкуронизация фенола [52].

В некоторых публикациях отмечена эффективность использования не целых гепатоцитов, а их ферментных микросомальных систем [50].

В других исследованиях доказано, что при острой печеночной недостаточности более выраженный

клинический эффект достигается использованием свежeweделенных, а не криоконсервированных изолированных гепатоцитов. Их жизнеспособность оценивается на основании теста с трипановым синим и составляет 40–50 % [6]. Вышесказанное диктует необходимость использования изолированных гепатоцитов с достаточно высоким уровнем сохранности функционально-метаболических характеристик. В зависимости от характера и тяжести заболевания требования к функциональному состоянию и количеству изолированных гепатоцитов могут варьировать и быть не столь строгими.

В настоящее время разрабатываются два направления использования изолированных гепатоцитов для лечения печеночной недостаточности: трансплантация гепатоцитов и их экстракорпоральное подключение. В резюме симпозиума по острой печеночной недостаточности Национального института здоровья США среди других перспективных методов лечения, наряду с трансплантацией печени были перечислены трансплантация ксено- и аллогенных гепатоцитов, экстракорпоральное подключение гепатоцитов. Есть прямые указания на то, что только чужеродные функционирующие гепатоциты могут обеспечивать эффективную поддержку печени реципиента [12, 18].

Большинство авторов считают, что наиболее эффективным является применение изолированных гепатоцитов в экстракорпоральных системах [1, 7, 26]. Более того, в случаях, когда ортотопическая трансплантация печени недоступна из-за ограниченности ресурсов или по другим причинам, пересадка изолированных гепатоцитов или 3–6-дневное подключение пациентов с острой печеночной недостаточностью к колонке с «искусственной печенью» дает время для поиска подходящего донорского органа [17].

Таким образом, применение экстракорпоральных биоискусственных поддерживающих систем способствует восстановлению функции печени пациента, и позволяют выиграть время перед ортотопической трансплантацией печени [17].

Применение ксеногенных изолированных гепатоцитов в «искусственной печени» является методом выбора при острой печеночной недостаточности, если исключается риск инфицирования пациента. Так, одним из преимуществ «искусственной печени» является отсутствие необходимости проведения иммуносупрессии у пациентов [14]. С другой стороны вид терапии с центрифужным способом требует значительного количества изолированных гепатоцитов (до 250–500 мл густой взвеси клеток), специального оборудования и обученного персонала. Он может вызывать иммунные осложнения при повторном использовании с образованием свободных иммунных комплексов.

Уже через 8–12 часов инкубации в перфузионных системах отмечено, так называемое, «утомление печени», что проявлялось уменьшением метаболической активности гепатоцитов [44]. Для обеспечения жизнедеятельности клеток в искусственной системе необходимы стабильная

температура (37 – 38 °С), строгий баланс ингредиентов в перфузате и высокое pO_2 , то есть должен сохраняться эффект, так называемого, «ненасыщенного метаболизма печени» [17].

Одной из трудных задач при применении гемосорбционной системы является надежная фиксация гепатоцитов в сорбционной колонке [3].

Применение сохраненных изолированных печеночных клеток дает возможность выполнять их трансплантацию от одного донора нескольким реципиентам в течение короткого времени. Для клинического применения изолированных гепатоцитов необходимо создание банка клеток, чтобы разобщить во времени забор и выделение клеток с их применением.

Среди существующих способов хранения суспензии изолированных гепатоцитов на первый план выходит консервация гепатоцитов, улучшение ее техники [41, 45]. Наиболее приемлемой для создания банка изолированных гепатоцитов оказалась криоконсервация клеток в жидком азоте. При низкотемпературном хранении (– 196 °С), практически не развивается процесс повреждения клеток из-за полного прекращения обменных процессов в них. Это делает возможные сроки хранения больших количеств суспензии изолированных гепатоцитов практически неограниченными.

Современное развитие методов криозащиты существенно уменьшило повреждение клеток [5]. В частности, среди консервирующих растворов предпочтение отдается раствору UW, эмбриональной бычьей (телячьей) сыворотке, DMSO. Этот метод обеспечивает жизнеспособность 90 % дифференцированных первичных человеческих гепатоцитов через 8 месяцев после криоконсервации, что подтверждено тестом с трипановым синим. Так, подвергнутые криоконсервации изолированные клетки в сравнении с фрагментами ткани печени показали отсутствие существенных различий как в морфологическом строении, так и в их биохимической функции. Криоконсервированные клетки синтезировали глюкозу, мочевины и протромбин [23].

Использование этих клеток в клинике у больных с острой и хронической печеночной недостаточностью выявило высокий лечебный эффект [8].

Примечательно, что, несмотря на использование в опытах человеческих гепатоцитов, консервированных в течение 4 недель при температуре – 80 °С, они проявляли свои функциональные свойства в полном объеме [34]. Применение криоконсервированных изолированных ксеногепатоцитов у пациентов с острой печеночной недостаточностью и обострением хронических заболеваний печени позволило долговременно поддерживать и обеспечивать синтетическую и детоксицирующую функции печени, пока не восстановилась печень реципиента. Указанная методика показала превосходную выживаемость пациентов, ожидавших трансплантацию печени, чего не отмечалось в группе с обострением хронических заболеваний печени [20].

Несмотря на низкую приживаемость донорских гепатоцитов в печени или селезенке, они размно-

жаются и формируют устойчивые ростки новой паренхимы в матриксе селезенки или печени крыс с острой печеночной недостаточностью. Количество пересаженных клеток печени увеличивалось в 7 раз между 3 – 14 днями после трансплантации. То есть, печень как бы вновь «заселяется» гепатоцитами, хотя для перепрофилирования плазматических мембран и увеличения массы и количества новых гепатоцитов нужно определенное время, которым будет определяться стратегия лечения [35]. Для увеличения эффективности имплантации донорских гепатоцитов создают условия повышенной регенерации гепатоцитов реципиента стимулирующей апоптоза или частичной ишемии органа [36].

В эксперименте была разработана модель ОПН у свиней, путем обратимой хирургической ишемии. При этом 77 % животных погибли от печеночной комы через $22,5 \pm 1,9$ часа от начала ишемии. В анализах отмечалось прогрессивное снижение фибриногена, тромбоцитов, протромбинового времени, нарушение пяти из семи факторов свертывания крови. Некроз печеночных клеток составил у выживших животных $74 \pm 4,7$ %, у погибших от печеночной комы – $86 \pm 5,5$ %. Данная модель может быть использована для количественной оценки использования трансплантации гепатоцитов у человека [10].

Инкапсулированные изолированные алло- и ксеногенные гепатоциты, трансплантированные в брюшину после 95 % резекции печени у крыс, снижали смертность до 39 и 36 % соответственно и сохранялись в организме в течение 2 месяцев после трансплантации [52]. Введение в селезенку 2×10^7 гепатоцитов в 0,3 мл среды DMEM за 24 часа до резекции 90 % печени увеличило выживаемость крыс, значительно увеличило отношение веса остаточных долей печени к весу тела, улучшило биохимические показатели через 24 часа после гепатэктомии. Гепатоциты активно выделяли глюкозо-6-фосфатазу [16]. Внутриселезеночная трансплантация 2×10^6 OUMS – 29 (клонированная культура высокодифференцированных человеческих гепатоцитов) защитила животных от гипераммониемии и связанной с ней печеночной энцефалопатии, значительно увеличило выживаемость при 90 % резекции печени у крыс [38].

После индукции в течение 4 недель декомпенсированного цирроза печени на фоне CCl_4 выполнялась трансплантация изогенных гепатоцитов крысы в селезенку, внутрибрюшинно, внутрибрюшинная трансплантация гомогената изогенных гепатоцитов крысы, трансплантация изогенных клеток костного мозга и введение в селезенку среды DMEM. Во всех группах, кроме группы с трансплантацией гепатоцитов в селезенку, снижалась масса тела и уровень сывороточного альбумина. Протромбиновое время, уровень общего билирубина, сывороточного аммиака были значительно ближе к нормальным показателям в этой группе. Выживаемость животных составила от 15 до 128 дней [32].

Ранее отмечено, что эмбриональная ткань печени крысы богата клетками, которые являются

предшественниками гепатоцитов. Они высоко пролиферативны, восприимчивы к ретровирусной трансдукции, выживают и функционируют во взрослой печени, если имеется печеночный регенеративный стимул [39]. Интрапортально трансплантированные фетальные гепатоциты синтезировали существенное количество белка при стимуляции фактором роста гепатоцитов [43].

Также было показано, что фетальные гепатоциты могут быть успешно пересажены в селезенку реципиента с формированием через 4–10 недель после трансплантации балкоподобных структур в красной пульпе, а к 6–10 неделе определялись цитохромы P 450LaW, P 4501A1, P 45011B1, P 450p, P 450HLp без любой предшествующей индукции [22].

Изолированные эмбриональные гепатоциты на основе хитозана, обработанном эндотелиальным фактором роста (ЕСGF), были пересажены крысам в подкожно-жировую клетчатку паховой области. Хитозан использовался как структурное подобие гликозаминогликанам, которые играют ведущую роль в процессе деления, дифференцировке и морфогенезе клетки. Иммуногистохимическим анализом было показано разрастание пересаженных гепатоцитов в течение 2 недель с формированием подобия печеночной ткани. Напротив гепатоциты, пересаженные без предварительного ЕСGF-стимулированного ангиогенеза погибали через 1 сутки после трансплантации. Этим было доказано, что хитозан, как биологическая матрица, имеет хорошие свойства для приживаемости трансплантированных клеток печени, а кроме того адекватная васкуляризация важна для выживаемости гепатоцитов в эктопических очагах [56].

В эксперименте на зародышах приматов и ягнят была показана относительно безопасная трансплантация через пупочную вену криоконсервированных эмбриональных, преобразованных генетически ретровирусом гепатоцитов, в объеме $1 - 2 \times 10^7$ клеток. После введения отмечалось сосудистый спазм, брадикардия у 2 зародышей, которые погибли. При дальнейшем гистохимическом исследовании и методом ПЦР не выявлено пересаженных клеток в печени, однако выявлены пересаженные гепатоциты в легком, головном мозге, надпочечнике, плаценте [28]. Тем самым, увеличивая количество пересаживаемых клеток и используя эффективные вирусные векторы (ретровирусы мышинный, птичий, свиной и ДНК-вирусы). Это может быть использовано для внутриутробной коррекции многих наследственных заболеваний печени [44].

Последние исследования показывают значимость трансплантации гепатоцитов для генной терапии *ex vivo* наследственных гепатаргий и коррекции печеночной недостаточности [23, 35, 49].

Трансплантация гепатоцитов у человека нередко ведет к иммунному конфликту между реципиентом и донором в виде реакции отторжения. Применение цитостатика FK 506 в эксперименте при трансплантации фетальных, алло- и ксеногенных гепатоцитов у крыс породы NAR показало высокие уровни сывороточных белков через 4 недели после

трех выполненных видов трансплантации, чем у животных без иммуносупрессии [13].

Решением этой проблемы может стать применение полимерных микропористых носителей гепатоцитов, что улучшит их выживание, а мембрана капсулы эффективно защитит гепатоциты, несмотря на иммунизацию хозяина [56].

Имеется гистологическое подтверждение сохранения ультраструктуры изолированных криоконсервированных аллогенных гепатоцитов при их трансплантации в портальную вену или в селезенку мышей линии СВА в течение 21 дня. В этих случаях не отмечалось реакции отторжения и не потребовалось иммуносупрессии реципиента [46].

В настоящее время выделено и идентифицировано более 10 факторов, влияющих на пролиферацию клеток печени. Среди них наиболее изучены гепатопоэтины, эпидермальный (EGF), трансформирующий (TGF), тромбоцитарный (PDGF), инсулиноподобный (IGF) и гепатоцитарный факторы роста (HGF) [27].

Наиболее митогенным эффектом обладает фактор роста гепатоцитов, содержание которого в эмбриональной ткани в 10 раз больше, чем у взрослых особей, однако он наиболее эффективен при концентрации 1–2 нг/мл в сыворотке крови [27].

Несмотря на оптимистические и обнадеживающие результаты применения трансплантации клеток печени в эксперименте и в клинике остается достаточно проблем далеких от своего решения на современном этапе. Это, прежде всего: 1) недостаточное количество пригодных органов для получения изолированных клеток; 2) недостаточно эффективные методы получения изолированных клеток; 3) противоречивые методы консервации изолированных клеток; 4) ограниченное понимание на данный момент механизмов, управляющих ростом и пролиферацией пересаженных клеток; 5) современные неадекватные методы оценки роста и отторжения пересаживаемых клеток [29].

Сюда следует отнести наличие иммунологического барьера при использовании алло- и ксеногенных клеток, пусть и меньшего, чем при оротопической трансплантации печени. Хотя в данном случае может проявляться, так называемый, феномен иммунотолерантности и с успехом применяются иммуносупрессоры, инкапсулирование изолированных клеток, обработка ферментами [24]. Ограничением трансплантации гепатоцитов также является то, что изолированные клетки могут плохо выживать в новой среде и нужно определенное время для их оптимального функционирования. Потенциальным ограничением может стать обеспечение секреции желчи при трансплантации гепатоцитов в различные эктопические очаги, кроме печени [37]. Существенным физиологическим барьером является несоответствие между человеческими белками и белками, вырабатываемыми ксеногенными гепатоцитами [42].

В настоящее время неясен полностью механизм действия изолированных гепатоцитов, применяемых для лечения печеночной недостаточности.

Коррекция врожденных печеночных энзимопатий трансплантацией изолированных алло- и ксеногенных гепатоцитов доказывает важность выполнения метаболических функций собственно пересаженными клетками [12]. Кроме того, предварительная сенсбилизация реципиента к донорским клеткам не снижает эффективность пересадки изолированных гепатоцитов [54].

Насущные нужды клинической гепатологии требуют углубленного изучения всего спектра факторов и механизмов, оказывающих лечебный эффект при использовании изолированных гепатоцитов. Остается много белых пятен в современном знании ассимиляции и пролиферации пересаженных клеток. Однако актуальность широкого клинического применения живых изолированных гепатоцитов несомненна. В недалеком будущем их использование в качестве временной поддержки функции печени и ее энергозамещение станет одним из важнейших лечебных методов современной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бельков А.В. Живые изолированные клетки печени: их свойства и клиническое применение / А.В. Бельков, А.А. Писаревский // *Анест. и реаним.* — 1991. — № 3. — С. 75–77.
2. Бруслик В.Г. Трансплантация изолированных клеток аллогенной печени в лечении острой печеночной недостаточности / В.Г. Бруслик. — М., 1984. — 168 с.
3. Гемоперфузия через взвесь живых донорских гепатоцитов при лечении тяжелой печеночной недостаточности / М.С. Маргулис [и др.] // *Хирургия.* — 1987. — № 2: — С. 107–110.
4. Гулак П.В. Гепатоцит: функционально-метаболические свойства / П.В. Гулак. — М., 1985. — 148 с.
5. Данилов М.А. Вопросы трансплантологии и искусственных органов / М.А. Данилов. — М., 1989. — 221 с.
6. Корухов Н.Ю. Первый клинический опыт применения аппарата «вспомогательная печень» / Н.Ю. Корухов, М.А. Полоцкий, А.А. Писаревский // *Трансплантация и искусственные органы* / под ред. В.И. Шумакова. — М., 1986. — 209 с.
7. Опыт применения консервированных ксеногепатоцитов в комплексном лечении больных желтухами / Э.Г. Абдуллаев [и др.] // *Вестн. хир.* — 1991. — № 4. — С. 101–103.
8. Шиманко И.И. Детоксикация в хирургии / И.И. Шиманко. — Махачкала, 1989. — 189 с.
9. Шумаков В.И. Лечение печеночной недостаточности методами трансплантации и экстракорпорального подключения печени и других тканей: (биологические и клинические аспекты) / В.И. Шумаков, Н.А. Онищенко. — М., 1994. — 211 с.
10. A reversible model of acute hepatic failure by temporary hepatic ischemia in the pig / S. Benoist [et al.] // *J. Surg. Res.* — 2000. — Vol. 88. — P. 63–69.
11. Allan J.S. Xenotransplantation at a crossroads: Prevention versus progress / J.S. Allan // *Nat. Med.* — 1996. — N 2. — P. 18–21.
12. Allogeneic and xenogeneic hepatocyte transplantation in experimental liver failure / L. Makowka [et al.] // *Transplantation.* — 1980. — Vol. 30. — P. 429–435.
13. Allogenic hepatocyte and fetal liver transplantation and xenogenic hepatocyte transplantation for Nagase's analbuminemic rats / N. Kokudo [et al.] // *Transplantation Cells.* — 2006. — N 5. — P. 21–22.
14. Bismuth H. What should we expect from a bioartificial liver in fulminant hepatic failure? / H. Bismuth, J. Figueiro, D. Samuel // *Artif. Organs.* — 2008. — Vol. 22. — P. 26–31.
15. Brief report: Treatment of hepatic failure with ex vivo pig-liver perfusion followed by liver transplantation / R.S. Chary [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1994. — Vol. 331. — P. 234–237.
16. Can clamping of splenic vessels prevent abrupt increase of portal vein pressure and migration of transplanted hepatocytes to the liver after intrasplenic hepatocyte transplantation? / W.H. Kim [et al.] // *Hepatogastroent.* — 2000. — Vol. 32. — P. 371–374.
17. Clinical experience with a bioartificial liver in the treatment of severe liver failure. A phase I clinical trial / F.D. Watanabe [et al.] // *Ann. Surg.* — 2007. — Vol. 225. — P. 484–491.
18. Clinical trials and projected future of liver xenotransplantation / J. Fung [et al.] // *World J. Surg.* — 1997. — Vol. 21. — P. 956–961.
19. Control of hepatocyte replication by two serum factors / G.K. Michalopoloulos [et al.] // *Cancer Res.* — 1984. — Vol. 44. — P. 4414–4419.
20. Demetriou A.A. Synthetic livers of a support system / A.A. Demetriou, F. Watanabe, J.P. Rozga // *Hepatology Dis.* — 2005. — Vol. 13. — P. 331–348.
21. Detoxifying activity in pig livers and hepatocytes intended for xenotherapy / M. Desille [et al.] // *Transplantation.* — 1999. — Vol. 10. — P. 1437–1443.
22. Effect of hepatocyte growth factor on the proliferation of transplanted hepatocytes in the spleen / K. Kato [et al.] // *Transplant. Proc.* — 2007. — Vol. 29, N 4. — P. 2029–2031.
23. Effective cryopreservation and long-term storage of primary human hepatocytes with recovery of viability, differentiation, and replicative potential / R.M. Adams [et al.] // *Cell Transplant.* — 1995. — N 6. — P. 579–586.
24. Enzymating remodelling of the carbohydrate surface of a xenogeneic cell substantially reduces human antibody binding and complement-mediated cytolysis / M.S. Sandrin [et al.] // *Nat. Med.* — 2005. — N 1. — P. 1261–1267.
25. Evaluation of a simplified staging system for prognosis of hepatocellular carcinoma / W.Y. Lui [et al.] // *J. Formos Med. Assoc.* — 2009. — Vol. 98, N 4. — P. 248–253.
26. Extracorporeal liver perfusion system successful hepatic support pending liver regeneration or liver transplantation: a pre-clinical controlled trial

- / G.M. Abouna [et al.] // *Transplantation*. – 2009. – Vol. 67. – P. 1576–1583.
27. Fausto N. Biology of disease: Regulation of liver growth: Protooncogenes and transforming growth factors / N. Fausto, J.E. Mead // *Lab. Invest.* – 2009. – Vol. 60. – P. 4–13.
28. Feasibility of hepatocellular transplantation via the umbilical vein in prenatal and perinatal lambs / O.H. Soriano [et al.] // *Fetal Diagn. Ther.* – 2003. – Vol. 8, N 5. – P. 293–304.
29. Fox I.J. Cell liver transplantation / I.J. Fox // *Gastroenterology*. – 1999. – Vol. 45. – P. 7–14.
30. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma. An audit of 344 patients / E.C. Lai [et al.] // *Am. Surg.* – 2005. – Vol. 221, N 3. – P. 291–298.
31. Hepatocyte growth factor promotes liver regeneration with prompt improvement of hyperbilirubinemia in hepatomized cholestatic rats / A. Yoshikawa [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2008. – N 1. – P. 54–59.
32. Hepatocyte transplantation in rats with decompensated cirrhosis / N. Kobayashi [et al.] // *Hepatology*. – 2000. – N 4. – P. 851–857.
33. Hoopes C.W. Hepatocyte transplantation: history, immunology and potential for clinical application / C.W. Hoopes, J.L. Platt // *Biotech. Lab. International*. – 1998. – N 3. – P. 11–14.
34. Human immune reactions against pig antigens / F. Citterio [et al.] // *V. Congr. Eur. Soc. for Organ Transplantation*. – 2001. – P. 308–310.
35. Integration and proliferation of transplanted cells in hepatic parenchyma following D-galactosamine-induced acute injury in F344 rats / S. Gupta [et al.] // *J. Pathol.* – 2000. – Vol. 190, N 2. – P. 203–210.
36. Jacobson M. Programmed cell death in animal development / M. Jacobson, M. Weil, M. Raff // *Cell*. – 2007. – Vol. 88. – P. 347–354.
37. Kanai N. Xenotransplantation of the liver / N. Kanai, L. Jeffrey, M.D. Platt // *Clinics in Liver Disease*. – 2000. – N 3. – P. 1234–1256.
38. Kobayashi N. Transplantation of highly differentiated immortalized human hepatocytes to treat acute liver failure / N. Kobayashi, M. Miyazaki, K. Fukaya // *Transplantation*. – 2000. – N 2. – P. 202–207.
39. Koch K.S. Increased sodium ion influx in necessary to initiate rat hepatocyte proliferation / Koch K.S., Leffert H.L. // *Cell*. – 1979. – Vol. 12, N 2. – P. 821–832.
40. Lake J. Hepatocyte transplantation / J. Lake // *N. Engl. J. Med.* – 1998. – Vol. 338. – P. 1463–1465.
41. Lawrence J.N. Development of an optimal method for the cryopreservation of hepatocytes and their subsequent monolayer culture / J.N. Lawrence, D.J. Benford // *Toxicol. In Vitro*. – 2001. – N 5. – P. 39–51.
42. Lawson J.H. The evaluation of thrombomodulin activity in porcine to human xenotransplantation / J.H. Lawson, L. Daniels, J.L. Platt // *Transplant. Proc.* – 2007. – Vol. 29. – P. 884–885.
43. Lilja H. Response of cultured fetal and adult rat hepatocytes to growth factors and cyclosporine / H. Lilja, P. Blanc, A.A. Demetriou // *Cell transplantation*. – 2008. – Vol. 23. – P. 257–266.
44. No evidence of pig DNA or retroviral infection in patients with short-term extracorporeal connection to pig kidneys / C. Patience [et al.] // *Lancet*. – 2008. – Vol. 352. – P. 699–701.
45. Optimization of cryopreservation procedures for rat and human hepatocytes / L.J. Lopetz [et al.] // *Xenobiotica*. – 1989. – Vol. 19. – P. 489–498.
46. Ostrowska A. Histological identification of purified and cryopreserved allogeneic hepatocytes following transplantation in a murine model without host immunosuppression / A. Ostrowska, F.M. Karrer, B.M. Bilir // *Transpl. Int.* – 1999. – Vol. 12, N 3. – P. 188–194.
47. Pereira S.P. Limits to liver transplantation in the UK / S.P. Pereira, R. Williams // *Gut*. – 2008. – Vol. 42. – P. 883–885.
48. Permanent engraftment and function of hepatocytes delivered to the liver: implication for gene therapy and liver repopulation / S. Gupta [et al.] // *Hepatology*. – 2004. – Vol. 32. – P. 34–43.
49. Platt J.L. Genetic therapies in xenotransplantation / J.L. Platt // *Expert Opinion in Investigational Drugs*. – 2009. – N 8. – P. 1653–1662.
50. Purification and subunit structure of hepatocyte growth factor from rat platelets / T. Nakamura [et al.] // *FEBS Lett.* – 1987. – Vol. 224. – P. 311–316.
51. Sperimentazione in vitro di un nuovo modello di bioreattore a flusso radiale contenente epatociti isolati / E. Morsiani [et al.] // *Ann. Ital. Chir.* – 2000. – Vol. 71. – P. 337–345.
52. Tanigushi S. Clinical xenotransplantation – a brief review of the world experience / S. Tanigushi, D.K.C. Cooper // In: *Xenotransplantation* / Eds.: D.K.S. Cooper [et al.]. – Berlin, Springer – Verlag. – 2007. – P. 776–784.
53. The UNOSOPTN waiting list and donor registry / A.M. Harper [et al.] // *Clin. Transpl.* – 2008. – Vol. 3. – P. 73–90.
54. Transplantation of discordant xenografts: a challenge revisited / W. Parker [et al.] // *Immunol. Today*. – 2006. – P. 373–378.
55. Un bon modele d'insuffisance hepaticque aigue: l'hepatectomie de 95 %. Traitement par la transplantation d'hepatocytes / V. Roger [et al.] // *Chirurgie*. – 2006. – Vol. 121. – P. 470–473.
56. Xenotransplantation of fetal porcine hepatocytes in rats using a tissue engineering approach / Y.M. Elcin, V. Dixit, K. Lewin, G. Gitnick // *Artif. Organs*. – 2009. – Vol. 23, N 2. – P. 146–152.

Сведения об авторах:

Монголов Ханхай Пурбоевич – канд. фарм. наук, Генеральный директор ГП РБ «Бурят-Фармация». Тел. 8 (3012) 43-90-56.
Плеханов Александр Николаевич – д.м.н., профессор, главный хирург МЗ РБ, г. Улан-Удэ, Дом Правительства. Тел. 8 (3012) 21-49-20