Москальов В.Б.
аспірант;
Мельниченко С.Ю.
студентка,
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

МОДЕЛЬ ОРГАНОТИПОВОЇ (ОРГАННОЇ) КУЛЬТУРИ ПЕЧІНКИ

Захворювання печінки посідають вагоме місце серед причин смертності людини, як у розвинених країнах, так і країнах, що розвиваються. У західних країнах провідними причинами виникнення таких захворювань є алкоголізм, інфекція вірусу гепатиту С та неалкогольна жирова хвороба печінки; в Азіатсько-Тихоокеанському регіоні – гепатит В [1–3].

Для зниження ризику смертності важливим є створення засобів, які здатні нівелювати вплив шкідливих чинників на печінку (геатопротектори) або стимулювати відновлення її структури та функції (стимулятори регенерації печінки), бо безпосереднього усунення причини виникнення захворювання (інфекції, шкідливих звичок, токсикантів навколишнього середовища) зазвичай недостатньо для повного відновлення роботи пошкодженого органу [4].

Серед засобів, що сприяють збереженню та відновленню роботи печінки визначають засоби рослинного та тваринного походження, препарати на основі ессенціальних фосфоліпідів, амінокислот та їх похідних, вітамінів та антиоксидантів та інші [4, с. 21], зокрема низькомолекулярні пептидні регулятори.

Фармацевтичну розробку гепатопротекторних засобів проводять у три етапи: скринінг (пошук) активних сполук, підтвердження гепатопротекторної активності та дослідження безпечності – токсикологічне дослідження, що може включати також і визначення гепатотоксичності. З метою дослідження цих показників виконують моделювання патології печінки [5, гл. 44].

Більшість з існуючих моделей, зокрема, рекомендовані настановами з доклінічних випробувань, здійснюються *in vivo*

(на тваринах). Так, найбільш поширеними є моделі гострого токсичного гепатиту, спричиненого дією різних речовин (тетрахлорметану, D-галактозаміну, парацетамолу, алілового спирту, сірчанокислої міді тощо). Після моделювання патології досліджують біохімічні показники, пов'язані з функціонуванням печінки, виконують макроскопічний огляд та гістологічне дослідження; часто для з'ясування структурних перебудов використовують імуногістохімічні дослідження [5, гл. 44].

Моделювання патології печінки на тваринах поряд з перевагами (урахування взаємодії печінки та інших органів, вплив імунної системи, зокрема, запалення та метаболізація досліджуваних сполук у організмі) мають недоліки, основними з яких є проблеми із стандартизацією, що викликані значними індивідуальними розбіжностями, та біоетичні аспекти.

Серед моделей *in vitro* (у штучних умовах) найбільш поширеною у практиці є культура ізольованих гепатоцитів. У поживне середовище з культурою клітин (зазвичай первинною) вводять токсикант. Після експозиції з токсикантом оцінюють життєздатність гепатоцитів (тест з трипановим синім), вихід аланінаміно-трансферази, аспартатамінотрансферази та лактатдегідрогенази у середовище [5, гл. 44]. Серед модифікацій описаної моделі зустрічається використання культури трансформованих клітин (перещеплюваної), наприклад, HepG2, Hep3в, Huh7 и HepaRG [6], або навіть 3D-моделі, в яких спостерігаємо спробу пошарового відтворення структури органу [7].

Такі моделі легко піддаються стандартизації та є прийнятними з точки зору біоетики, проте найчастіше не ураховують не лише взаємодію печінки з іншими органами та системами, але й міжклітинну взаємодію самого органу.

Компромісним варіантом, який може частково поєднати переваги та знівелювати недоліки обох підходів, є органні та органотипові моделі. Суть методики полягає у культивуванні фрагментів печінки у поживному середовищі (Ігла на буферному розчині Хенкса або інше та бича сироватка крові для культур, 5–10 %). При цьому зберігається пошарова будова органу, взаємозв'язки між клітинними популяціями. Також ця методика проста та відтворювана [8].

Описана методика використовується для *in vitro* експрес-оцінки гепатотропної (гепатопротекторної) дії сполук, що вносяться у середовище за інтенсивністю формування «зони виселення та росту» [8]. Наші дослідження дозволили розширити спектр застосування описаної методики та підтвердили придатність до її використання *ex vivo* – для визначення інтенсивності регенераційних процесів після впливу хімічних (вплив сірчанокислої міді, високих доз вітаміну А) та фізичних (електромагнітне опромінення) чинників на організм тварини.

Зазначені результати дозволяють використовувати цю модель для скринінгу гепатопротекторних речовин різної природи з урахуванням ймовірної етіології захворювання. Перспективним напрямом подальшої роботи є розширення переліку індикативних показників (додатково до інтенсивності формування «зони виселення та росту»), які більш повно розкриватимуть зміни функціонального стану органу після дії досліджуваних чинників.

Список використаних джерел:

1. Asrani S.K., Larson J.J. et al. Underestimation of liver-related mortality in the United States. *Gastroenterology*. 2013. Vol. 2. No 145. P. 375–382.

2. Naveau S., Perlemuter G., Balian A. Epidemiology and natural history of cirrhosis. *Rev Prat*. 2005. No 55. P. 1527–1532.

3. Lv G.C., Yao J.M. et al. Efficacy of combined therapy in patients with hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*. 2013. No 19. P. 3481–3486.

4. Матвеев А.В. Гепатопротекторы. Анализ международных исследований по препаратам группы лекарств для печени. Симферополь : ИТ «АРИАЛ», 2013. 384 с.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. Миронова А.Н. Москва : Гриф и К., 2012. 944 с.

6. Снопов С.А., Терюкова Н.П. и др. Использование клеток линии HepG2 для оценки токсического и метаболического действия антипсихотиков. *Цитология*. 2017. Т. 59. № 3. С. 210–219.

7. Zhou, Y., Shen, J. X., Lauschke, V. M. Comprehensive evaluation of organotypic and microphysiological liver models for prediction of drug-induced liver injury. *Frontiers in pharmacology*. 2019. Vol. 10. Art. 1093.

8. Хавинсон В.Х., Чалисова Н.И., Линькова Н.С. и др. Зависимость тканеспецифического действия пептидов от количества аминокислот, входящих в их состав. *Фундаментальные исследования*. 2015. № 2–3. С. 497–503.