

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Шабашева Л.В., Протасова Г.А., Попов В.Б.

## Оценка влияния клеточной трансплантации на процессы репарации ДНК в гепатоцитах крыс после повреждения тетрахлоридом углерода (CCl<sub>4</sub>) с использованием метода ДНК-комет

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»  
Федерального медико-биологического агентства, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация.

**Введение.** Проведена экспериментальная оценка влияния четырёххлористого углерода – хлорорганического соединения с химической формулой CCl<sub>4</sub> (тетрахлорид углерода, фреон-10, асордин, хладон-10) и трансплантации клеток фетальной печени (КФП) на степень деградации и процессов репарации ДНК в клетках печени крыс, используя метод щелочного гель-электрофореза единичных клеток.

**Материал и методы.** Острое токсическое поражение печени крыс моделировали однократным внутрижелудочным введением крысам-самкам линии Вистар препарат CCl<sub>4</sub> в масляном растворе в дозе 3000 мг/кг массы тела. В качестве протекторного средства использовали суспензию КФП 19-суточных плодов крысы. Для количественной оценки и степени повреждения ядерной ДНК клеток печени применяли метод щелочного электрофореза единичных клеток (ДНК-комет) на 1-, 3-, 5-, 7-е и 16-е сутки эксперимента.

**Результаты.** Внутривенное введение КФП через 6 ч после воздействия тетрахлорметана активировало процессы репарации ДНК в гепатоцитах крыс на 5–7-е сутки, что приводило к снижению интенсивности повреждения ядерной ДНК. Тенденция к уменьшению числа неповреждённых гепатоцитов сохранялась и на 16-е сутки эксперимента, при этом усиление репаративных процессов после введения КФП реализовалось в достоверном сокращении количества гепатоцитов с высокой интенсивностью повреждения ядерной ДНК.

**Ограничение исследования.** Для предотвращения нежелательной гибели животных в группе, исследования были ограничены дозой 3000 мг/кг м. т. препарата CCl<sub>4</sub> в масляном растворе.

**Заключение.** Использованный в наших экспериментах метод щелочного гель-электрофореза единичных клеток (ДНК-комет) позволил количественно оценить степень повреждения генома и его репарацию. Выявленные позитивные результаты свидетельствовали о протекторной роли КФП на структуру ДНК клеток печени крыс, после острого воздействия CCl<sub>4</sub>.

**Ключевые слова:** метод ДНК-комет; клетки фетальной печени (КФП); генотоксичность; трансплантация; репарация; тетрахлорид углерода

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование выполнено с соблюдением правил биоэтики, утверждённых Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей.

**Для цитирования:** Шабашева Л.В., Протасова Г.А., Попов В.Б. Оценка влияния клеточной трансплантации на процессы репарации ДНК в гепатоцитах крыс после повреждения тетрахлоридом углерода (CCl<sub>4</sub>) с использованием метода ДНК-комет. *Токсикологический вестник*. 2023; 31(1): 30-36. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2023-31-1-30-36>

**Для корреспонденции:** Шабашева Лилия Владимировна, старший научный сотрудник лаборатории Общей токсикологии и гигиенического регламентирования ФГУП «НИИ ППЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область. E-mail: shabash69@gmail.com

**Участие авторов.** Все соавторы внесли равнозначный вклад в исследование и подготовку статьи к публикации.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках реализации государственной программы Российской Федерации «Развитие здравоохранения».

Поступила в редакцию: 09 августа 2022 / Принята в печать: 2023 / Опубликовано: 28 февраля 2023

Shabasheva L.V., Protasova G.A., Popov V.B.

# Assessment of the effect of cell transplantation on DNA repair in rat hepatocytes exposed to carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) by DNA comet assay

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology FMBA of Russia, 188663, Leningrad Region, Russian Federation

**Introduction.** The effect of carbon tetrachloride (freon-10, asordin, hlodon-10) is an organochlorine compound with the chemical formula CCl<sub>4</sub> and the subsequent transplantation of fetal liver cells (FLC) on DNA degradation and repair in rat hepatocytes by means of alkaline single-cell gel electrophoresis (DNA comet assay) was assessed.

**Material and methods.** Acute toxic damage to the rat liver was simulated by a single oral administration to female Wistar rats of CCl<sub>4</sub> in an oil solution at a dose of 3000 mg/kg. As a protective agent, a suspension of FLC of E19 rat fetuses was used. Quantitative assessment of the degree of damage to the nuclear DNA of liver cells was performed by DNA comet assay on days 1, 3, 5, 7 and 16 of the experiment.

**Results.** Intravenous injections of fetal liver cells 6 h after exposure to CCl<sub>4</sub> induces DNA repair processes in rat hepatocytes in 5–7 days and led to a decrease in the intensity of nuclear DNA damage. The trend toward a decrease in the number of undamaged hepatocytes continued on the 16th day of the experiment, and, therewith, the enhancement of reparative processes after FLC injection revealed itself in a significant decrease in the number of hepatocytes with a high intensity of nuclear DNA damage.

**Limitations.** To prevent unwanted death of animals in the group, studies were limited to a dose of 3000 mg/kg of CCl<sub>4</sub> in oil solution.

**Conclusion.** The method of alkaline single-cell gel electrophoresis (DNA comet assay) allowed quantitative assessment of the degrees of genome damage and repair. The obtained positive results suggest that FLC exert a protective effect of the structure of the DNA of rat liver role after acute exposure to CCl<sub>4</sub>.

**Keywords:** DNA comet assay; fetal liver cells (FLC); genotoxicity; repair; transplamtstion; carbon tetrachloride

**Compliance with ethical standards.** The study was performed in compliance with the rules of bioethics approved by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Purposes.

**For citation:** Shabasheva L.V., Protasova G.A., Popov V.B. Assessment of the effect of cell transplantation on DNA repair in rat hepatocytes exposed to carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) by DNA comet assay. *Toksikologicheskii vestnik (Toxicological Review)*. 2023; 31(1): 30-36. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2023-31-1-30-36> (in Russian)

**For correspondence:** Liliia V. Shabasheva, Senior Researcher, Laboratory of General Toxicology and Hygienic Regulation, Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology FMBA of Russia, 188663, Leningrad Region. E-mail: shabash69@gmail.com

## Information about authors:

Protasova G.A., <https://orcid.org/0000-0002-5754-3204>

Popov V.B., <https://orcid.org/0000-0001-8239-0345>

**Author contribution.** All co-authors made an equal contribution to the research and preparation of the article for publication.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgements.** The study was carried out as part of the implementation of the state program of the Russian Federation "Development of healthcare".

## Введение

В настоящее время существует множество методов оценки повреждений структуры молекулы ДНК, индуцированных физическими, химическими и другими факторами, однако не все они обладают чувствительностью и специфичностью, позволяющим оценить их патогенетическое действие. Повреждение структуры ДНК в клетках может инициировать развитие патологических процессов в организме (в том числе нарушений процессов пролиферации, дифференцировки и гибели клеток), в связи с этим особую важность приобретает регистрация первичных повреждений в структуре ДНК, когда патологические процессы в организме еще не запущены и не реализованы на физиологическом уровне [1].

Наиболее перспективным и современным является сравнительно недавно разработанный, но уже широко используемый метод щелочного гель-электрофореза единичных клеток «ДНК-комет». Метод «ДНК-комет» становится неотъемлемой частью программ большинства исследований, связанных с изучением накопленных повреждений ДНК и активности систем её репарации практически в любых эукариотических клетках [1, 2], индуцированных преимущественно химическими факторами.

Четырёххлористый углерод (тетрахлорид углерода, фреон-10, асордин, хладон-10) – хлорорганическое соединение с химической формулой  $CCl_4$ , является политропным химическим агентом, способным взаимодействовать с различными структурами клетки, вызывать белковую и жировую дистрофию гепатоцитов, инициировать оксидативный стресс и в целом обладает общетоксическим действием, но, несмотря на обширные исследования, данные о специфическом воздействии  $CCl_4$  на геном клетки печени представлены недостаточно полно [3]. В связи с этим оценка влияния  $CCl_4$  на генетический аппарат гепатоцитов представляется весьма актуальной задачей.

В последние годы в экспериментальных работах, среди многочисленных способов коррекции поражений печени, активно используется клеточная терапия, которая основывается на стимуляции собственных стволовых клеток организма или введении стволовых (прогениторных) клеток, полученных из органов взрослого организма, а также эмбриональных и фетальных стволовых клеток. Поиск оптимальных источников клеток и получение функционально активных типов клеток для трансплантации при различных поражениях печени остаётся одной

из основных задач экспериментаторов. Несмотря на большое количество исследований [4–6] в области клеточной трансплантологии, сведений о репарационных процессах в молекуле ДНК клеток печени после введения клеточного материала, недостаточно.

Последние наши исследования были посвящены оценке эффективности коррекции острого токсического гепатита, индуцированного  $CCl_4$ , клетками фетальной печени (КФП) и изучению их роли в обеспечении регенераторных процессов в печени [7]. В работе представлено описание общетоксического действия химиката и восстановительных процессов, произошедших в печени крыс после трансплантации КФП.

*Цель исследования* – провести экспериментальную оценку влияния  $CCl_4$  и трансплантации клеток фетальной печени (КФП) на степень деградации ДНК и процессов репарации ДНК в клетках печени крыс, используя метод щелочного гель-электрофореза единичных клеток.

## Материал и методы

Острое токсическое поражение печени крыс моделировали однократным внутрижелудочным введением крысам-самкам линии Вистар препарата  $CCl_4$  в масляном растворе в дозе 3000 мг/кг массы тела. В качестве протекционного средства использовали суспензию КФП 19-суточных плодов крысы [7].

В ходе эксперимента животные были разделены на три группы: 1-я (контрольная) группа состояла из интактных животных; 2-я группа – позитивный контроль (животным однократно внутрижелудочно вводили  $CCl_4$  в дозе 3000 мг/кг); 3-я (группа коррекции) – животные, которым наряду с  $CCl_4$  вводили в хвостовую вену КФП в количестве 5 млн клеток в объёме 100 мкл. Клетки фетальной печени вводили крысам через 6 ч после применения  $CCl_4$ .

Некропсию животных, после эвтаназии эфиром, проводили на 1-, 3-, 5-, 7-е, и 16-е сутки после инъекции  $CCl_4$ , у крыс иссекали печень. Затем из ткани печени получали чистую клеточную суспензию, смешивали её с легкоплавкой агарозой и наносили на специально подготовленные предметные стёкла, далее препараты помещали в лизирующий раствор и спустя некоторое время проводили щелочной гель-электрофорез по ранее использованному нами и описанному в литературе методу [8].

Полученные препараты исследовали с помощью люминесцентного микроскопа Axioskop 40 FL (Carl Zeiss, Германия) и видеосистемы с

**Уровень ДНК-повреждений гепатоцитов печени крыс после воздействия CCl<sub>4</sub> и последующей трансплантации КФП**  
**DNA damage in rat liver hepatocytes after CCl<sub>4</sub> exposure and subsequent FLC transplantation**

Некропсия, сутки после инъекции CCl <sub>4</sub>	Вещество (группа крыс)	Доля клеток с разной степенью повреждённости ДНК, %				
		5	10	15	20	20 и более
	Контроль (интактные животные)	56,2	21,2	10,9	5,2	6,5
1-е	CCl <sub>4</sub> (позитивный контроль)	44,6 <i>p</i> < 0,001*	23,9	17,0 <i>p</i> < 0,001*	8,5 <i>p</i> < 0,05*	6,0
	CCl <sub>4</sub> + КФП	41,7 <i>p</i> < 0,001*	23,0	15,5 <i>p</i> < 0,05* •	9,7 <i>p</i> < 0,01*	10,0 <i>p</i> < 0,05*
3-и	CCl <sub>4</sub> (позитивный контроль)	59,0	20,0	9,4	5,1	6,6
	CCl <sub>4</sub> + КФП	53,4 <i>p</i> < 0,01*	19,0	12,0	5,9	9,8 <i>p</i> < 0,01*
5-е	CCl <sub>4</sub> (позитивный контроль)	37,8 <i>p</i> < 0,001*	21,2	13,6 <i>p</i> < 0,05*	10,1 <i>p</i> < 0,001*	17,3 <i>p</i> < 0,001*
	CCl <sub>4</sub> + КФП	43,0 <i>p</i> < 0,001* <i>p</i> < 0,05 •	21,5	14,0 <i>p</i> < 0,05*	9,0 <i>p</i> < 0,001*	12,6 <i>p</i> < 0,001* <i>p</i> < 0,05 •
7-е	CCl <sub>4</sub> (позитивный контроль)	50,0 <i>p</i> < 0,01*	22,4	15,0 <i>p</i> < 0,01*	7,2	5,5
	CCl <sub>4</sub> + КФП	56,6 <i>p</i> < 0,05 •	15,2	12,0	6,3	9,8 <i>p</i> < 0,01*
16-е	CCl <sub>4</sub> (позитивный контроль)	37,4 <i>p</i> < 0,001*	23,3	16,2 <i>p</i> < 0,001*	10,8 <i>p</i> < 0,001*	12,3 <i>p</i> < 0,001*
	CCl <sub>4</sub> + КФП	42,3 <i>p</i> < 0,001*	22,0	16,7 <i>p</i> < 0,001*	9,6 <i>p</i> < 0,001* <i>p</i> < 0,01 •	9,6 <i>p</i> < 0,01* •

Примечание. Различия достоверны: \* – с группой интактных животных (контроль); • – с группой позитивного контроля.

цифровой камерой. На всех препаратах анализировали не менее 50 «ДНК-комет» без наложенных хвостов. Обработку сохранённых цифровых изображений выполняли с помощью программы CometScore (Tri Tek Corp., США).

В качестве показателя повреждения ядерной ДНК клеток использовали процентное содержание ДНК в хвосте кометы (% DNA in Tail) [8]. Для определения доли клеток с разной степенью повреждения ДНК-кометы распределяли по группам в зависимости от величины показателя «% ДНК в хвосте» от 0 до 20% и более [9].

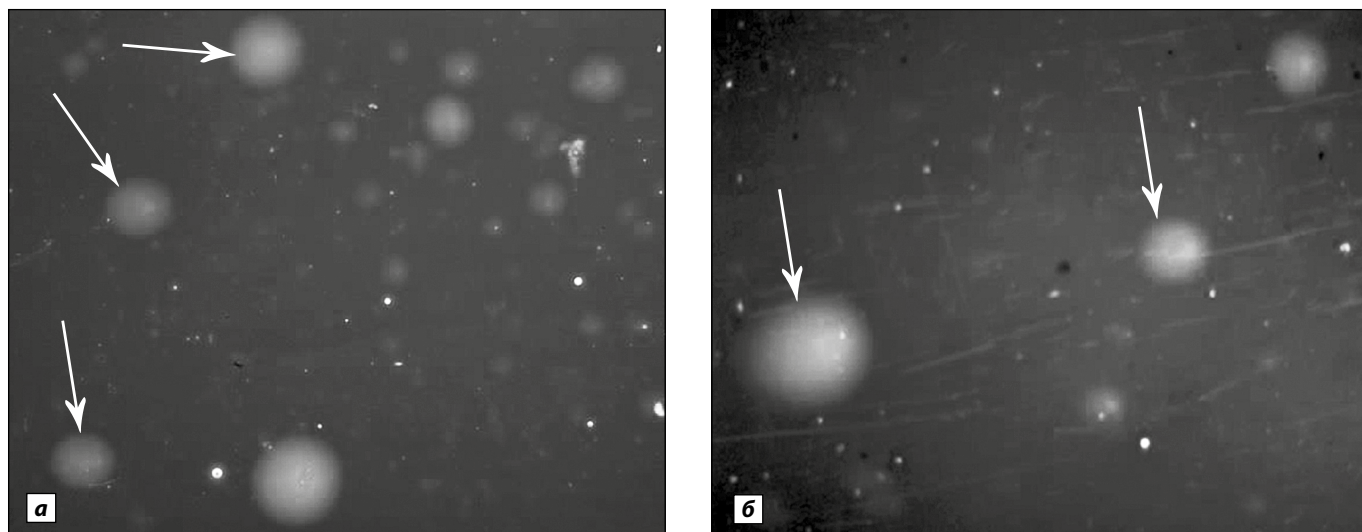
Статистическую обработку данных проводили на основе множественных сравнений, используя тест Бартлета, предварительно оценивали однородность дисперсий в изучаемых выборках. При подтверждении однородности использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующей коррекцией уровней различий между контролем и подопытными группами по *t*-тесту Бонферрони или *q*-тесту Даннета, при отсутствии однородности дисперсий для сравнения

средних величин в группах применяли непараметрический критерий Краскела–Уоллиса с коррекцией по тесту Данна [10, 11]. Различия считали достоверными при *p* < 0,05. Данные обрабатывали с помощью статистической компьютерной программы Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., США).

## Результаты и обсуждение

Оценку влияния клеточной трансплантации на процессы репарации ДНК в гепатоцитах крыс после повреждения CCl<sub>4</sub> проводили с использованием метода ДНК-комет. После проведения автоматического подсчёта процентного содержания ДНК в ядрах гепатоцитов, полученные данные были распределены на несколько категорий в зависимости от величины показателя «% ДНК в хвосте» [9].

В контрольной группе доля клеток с низкой степенью повреждения ДНК превалирует (56,2%) над гепатоцитами с высокой степенью повреждения (5,2–6,5%) ДНК в хвосте кометы (таблица).



**Рис. 1.** Микрофотографии «комет», формируемых клетками печени в контрольных (а) и экспериментальных (б) условиях после острого воздействия  $CCl_4$ , щелочной гель-электрофорез, ув.  $\times 200$ .

Стрелками указаны примеры ДНК-комет клеток с неповреждённой (а) и повреждённой (б) ДНК.

**Fig. 1.** Micrographs of comets formed by liver cells under control (a) and experimental (b) conditions after acute exposure to  $CCl_4$ , alkaline gel electrophoresis,  $\times 200$ .

Arrows point to the DNA comets of cells with intact (a) and damaged DNA (b).

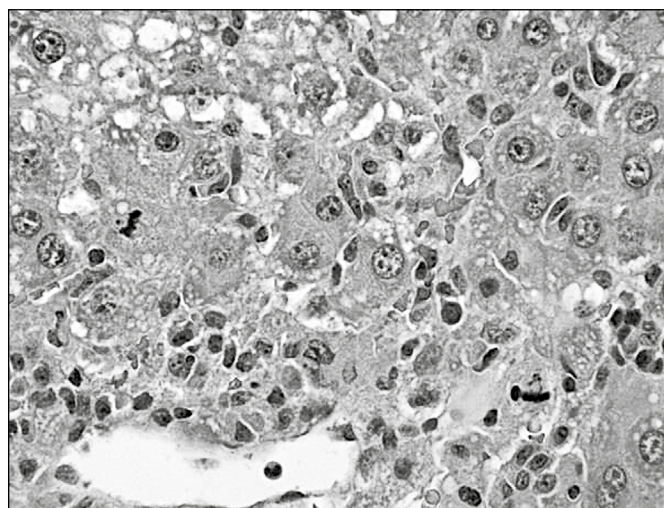
Визуальный осмотр микрофотографий клеток печени показал, что молекула ДНК гепатоцитов интактных крыс формировала симметричное ядро и окружающий его электрофоретический след, представленный в виде фрагментов и петель сверхполимерных молекул ДНК, вышедших в агарозу под влиянием электрического поля.

На препаратах гепатоцитов животных подопытной группы, подвергавшейся воздействию  $CCl_4$  (позитивный контроль), электрофоретический след вокруг молекул ДНК образовывал

более выраженные хвосты кометы разного размера, что скорее всего обусловлено деградацией генома и более существенной миграцией фрагментов ДНК (рис. 1, а, б).

Сравнение долей клеток с различной степенью повреждения ядерной ДНК показало, что в 1-е сутки эксперимента процент неповреждённых клеток (от 0 до 5%) в печени подопытных животных был значительно снижен ( $p < 0,001$ ) как в группе позитивного контроля (ПК), так и в группе, получившей инъекцию КФП. Доля гепатоцитов с выраженной степенью повреждения клеток в подопытных группах достоверно выше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). К 3-м суткам эта тенденция сохранялась, но была менее выражена. Внутривенное введение КФП в эти сроки (с 1–3-х суток) не влияло на интенсивность повреждения ядерной ДНК (см. таблицу).

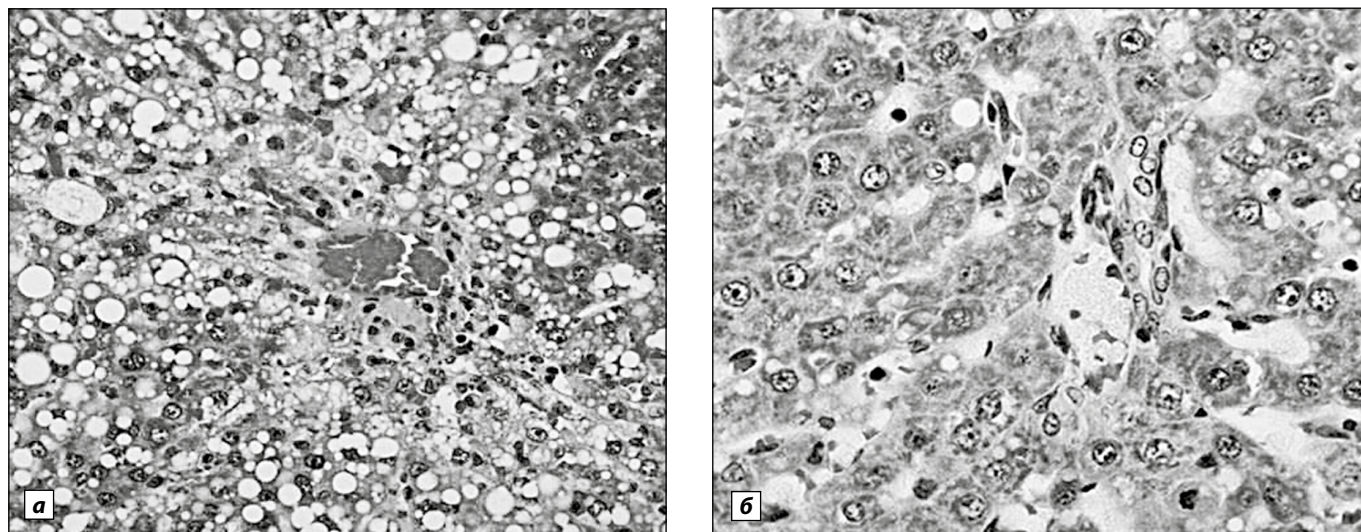
Стоит отметить, что в течение 1–3-х суток эксперимента в группе позитивного контроля наблюдался выраженный цитотоксический эффект  $CCl_4$ , проявляющийся в наличии большого числа некротических гепатоцитов, которые не учитывались в ходе анализа. Этот эффект подтверждался результатами патоморфологического анализа. В течение первых трёх суток после воздействия  $CCl_4$  в печени отмечались выраженные центрлобулярные некрозы паренхимы с нарушением трабекулярного строения центральных зон, атипичные митозы, гидрорпическая, белковая, углеводная и жировая дистрофии (рис. 2).



**Рис. 2.** Печень (3-и сутки после воздействия  $CCl_4$ ).

Позитивный контроль. Атипичные митозы гепатоцитов. Окраска гематоксилин-эозин, ув.  $\times 630$ .

**Fig. 2.** Liver (three days after exposure to  $CCl_4$ ). Positive control. Atypical mitoses of hepatocytes. Stain: hematoxylin-eosin,  $\times 630$ .



**Рис. 3.** Печень (3-и сутки после воздействия  $\text{CCl}_4$ ): а – группа ПК, нарушение строения трабекул, дистрофические изменения; ув.  $\times 400$ ; б – трансплантация КФП, восстановление трабекулярного строения в центральных зонах, снижение интенсивности дистрофических процессов; окраска азур-эозин, ув.  $\times 630$ .

**Fig. 3.** Liver (three days after exposure to  $\text{CCl}_4$ ): а – PC group: structural damage of trabeculae;  $\times 400$ ; б – FLC transplantation: recovery of the trabecular structure in the central zones, slow down of dystrophic processes; stain azure-eosin,  $\times 630$ .

Начиная с 5-х суток (и в последующие сроки) исследования, во всех подопытных группах крыс процент неповреждённых клеток печени был достоверно снижен ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,01$ ), что свидетельствовало о повышенном уровне фрагментации ядерной ДНК после воздействия  $\text{CCl}_4$  (см. таблицу). В подопытных группах с введением КФП отмечалось достоверное увеличение неповреждённых гепатоцитов ( $p < 0,05$  на 5–7-е сутки), а также снижение числа гепатоцитов с высокой интенсивностью повреждения ядерной ДНК ( $p < 0,05$ ). Патоморфологический анализ в эти же сроки показал, что деструктивные изменения паренхимы после трансплантации КФП снижались, уменьшалась интенсивность дистрофических процессов, происходило восстановление трабекулярного строения центральных зон, в паренхиме наблюдались остаточные явления жировой дистрофии, но менее выраженные, чем в группе ПК (рис. 3, а, б).

Таким образом, внутривенное введение КФП через 6 ч после воздействия тетраоксида углерода активировало процессы репарации ДНК в гепатоцитах крыс на 5–7-е сутки, что приводило к снижению интенсивности повреждения ядерной ДНК. Тенденция к сокращению числа неповреждённых гепатоцитов сохранялась и на 16-е сутки эксперимента, при этом усиление репаративных процессов после введения КФП реализовалось в достоверном снижении количества гепатоцитов с высокой интенсивностью повреждения ядерной ДНК ( $p < 0,01$  по отношению к группе ПК).

## Заключение

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что внутрижелудочное введение  $\text{CCl}_4$  в дозе 3000 мг/кг вызывало выраженный цитотоксический эффект, обусловленный обширными некротическими изменениями в клетках печени крыс, тогда как трансплантация КФП в хвостовую вену (через 6 ч после воздействия тетраоксида углерода) снижала эти негативные последствия.

Визуальный осмотр препаратов, полученных с помощью метода щелочного гель-электрофореза, также показал наличие цитотоксического эффекта в первые трое суток эксперимента, а анализ численных показателей в последующие сроки выявил генотоксическое действие  $\text{CCl}_4$  на ядерную ДНК гепатоцитов. Предполагаемой причиной генотоксичности  $\text{CCl}_4$  скорее всего являлся окислительный стресс, на это указывает определенная способность тетрахлорметана инициировать процессы перекисного окисления липидов и снижать интегральную антирадикальную активность в печени [12], некоторые авторы отмечают, что основной причиной окислительного повреждения ДНК являются высокореакционные оксирадикалы, вызывающие разрывы цепей ДНК и модифицирующие основания [3].

Клетки фетальной печени обладают достаточно высокой активностью при экспериментальных отравлениях, защитный механизм таких

клеток заключается в уникальной способности к дифференцировке в соответствии с их потенциальной и высоким содержанием бластных форм, которые обеспечивают дальнейшую пролиферацию и миграцию в условиях *in vivo* [13–16].

В нашем исследовании внутривенное введение КФП через 6 ч после воздействия тетрахлорида углерода активировало процессы восстановления ДНК в гепатоцитах крыс, начиная с 5-х суток, что приводило к снижению интенсивности повреждения ядерной ДНК. Эта тенденция сохранялась и на 16-е сутки эксперимента, усиление репаративных процессов после введения КФП реализовалось в достоверном снижении количества гепатоцитов с высокой интенсивностью повреждения ядерной ДНК ( $p < 0,01$  по отношению к группе ПК).

Отсутствие выраженного эффекта репарации молекулы ДНК могло произойти по нескольким причинам: слишком ранние сроки введения КФП (6 ч после воздействия  $CCl_4$ ); введенный клеточный материал мог попасть под токсическое воздействие  $CCl_4$ ; а также, возможно, — недостаточное количество фетальных клеток (5 млн) и частота их введения.

Таким образом, использованный в наших экспериментах метод щелочного гель-электрофореза единичных клеток (ДНК-комет) позволил количественно оценить степень повреждения генома гепатоцитов и его репарацию.

Полученные положительные результаты свидетельствуют о возможной протекторной роли КФП на структуру ДНК клеток печени, после острого воздействия  $CCl_4$ .

### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 10, 11 см. в References)

1. Филиппов Э.В. Использование метода «ДНК-комет» для детекции и оценки степени повреждений ДНК клеток организмов растений, животных и человека, вызванных факторами окружающей среды (обзор). *Наука и образование*. 2014; 2: 72–8.
2. Жанатаев А.К., Дурнев А.Д., Середин С.Б. Метод ДНК-комет в генотоксикологических исследованиях. *Гигиена и санитария*. 2011; 5: 86–90.
3. Кропотов А.В., Челомин В.П., Слободкова В.В., Солодова Е.Е., Михайлов А.О. Оценка генотоксичности тетрахлорметана и защитного действия сибиллина и хаурнтинина с помощью метода ДНК-комет в печени крыс. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2013; 2: 63–6.
4. Бурганова Г.Р., Титова А.А., Шарипова Э.И., Певнев Г.О., Мавликеев М.О., Газизов И.М. и др. Влияние трансплантации перисинусоидальных клеток печени на регенерацию печени крыс после повреждения четырёххлористым углеродом и 2-ацетиламинофлуореном. *Гены & Клетки*. 2014; 9(3): 53–8.
5. Ляндуп А.В. Применение мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для коррекции фиброзирующего повреждения печени: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2008.
6. Киясов А.П., Одинцова А.Х., Гумерова А.А., Газизов И.М., Фаррахов А.З., Кундакчян Г.Г., и др. Трансплантация аутогенных гемопоэтических стволовых клеток больным хроническими гепатитами. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2008; 3(1): 70–5.
7. Протасова Г.А., Шабашева Л.В., Попов В.Б. Коррекция токсического поражения печени стволовыми клетками. *Токсикологический вестник*. 2020; 4(163): 21–6.
8. Жанатаев А.К., Лисицына Т.А., Дурнев А.Д. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений: Методические рекомендации. М.; 2006.
9. Чаушева А.И. Анализ генетической стабильности мультипотентных мезенхимных стромальных клеток человека в культуре: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2012.
10. Кравченко Л.В., Трусов Н.В., Ускова М.А., Аксенов И.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В. и др. Характеристика острого токсического действия четырёххлористого углерода как модели окислительного стресса. *Токсикологический вестник*. 2009; 1: 12–8.
11. Петракова О.С., Черниогло Е.С., Терских В.В., Калистратова Е.Н., Васильев А.В. Использование клеточных технологий в лечении патологий печени. *Acta naturae*. 2012; 4(3(14)): 18–33.
12. Нартайлаков М.А., Муслимов С.А., Янгиров И.В. Возможности стимуляции регенерации фетальными и биологическими материалами при циррозе печени. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2006; 1(1): 1–12.
13. Абдулкадыров К.М., Балашова В.А. Клеточный состав печени и селезенки в фетальном периоде. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2008; 3(1): 46–8.
14. Пирогова И.Ю., Пышкин С.А. Регенерационная терапия хронических гепатитов и циррозов печени с помощью трансплантации фетальных тканей. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2008; 3(1): 57–61.

### REFERENCES

1. Filippov E.V. Using DNA comet assay to detect and assess the degree of DNA damage in cells of plant, animal, and human organisms, caused by environmental factors (a review). *Nauka i obrazovanie*. 2014; 2: 72–8. (in Russian)
2. Zhanataev A.K., Durnev A.D., Seredin S.B. DNA comet assay in genotoxicological research. *Gigiena i sanitariya*. 2011; 5: 86–90. (in Russian)
3. Kropotov A.V., Chelomin V.P., Slobodkova V.V., Solodova E.E., Mikhailov A.O. Evaluation of the genotoxicity of carbon tetrachloride and the protective effect of sybilin and chauranthin by DNA comet assay in rat liver. *Tikhookeanskii meditsinskiy zhurnal*. 2013; 2: 63–6. (in Russian)
4. Burganova G.R., Titova A.A., Sharipova E.I., Pevnev G.O., Mavlikeev M.O., Gazizov I.M. et al. Effect of perisinusoidal liver cell transplantation on rat liver regeneration after exposure to carbon tetrachloride and 2-acetylaminofluorene. *Geny & Kletki*. 2014; 9(3): 53–8. (in Russian)
5. Lyundup A.V. Application of bone marrow mesenchymal stromal cells for the correction of fibrosing liver damage. *Cand. med. sci. diss. Moscow*; 2008. (in Russian)
6. Kiyasov A.P., Odintsova A.Kh., Gumerova A.A., Gazizov I.M., Farrakhov A.Z., Kundakchyan G.G., et al. Transplantation of autogenous hematopoietic stem cells in patients with chronic hepatitis. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2008; 3(1): 70–5. (in Russian)
7. Protasova G.A., Shabashева L.V., Popov V.B. Correction with stem cells of toxic damage to the liver. *Toksikologicheskii vestnik*. 2020; 4(163): 21–6. (in Russian)
8. Zhanataev A.K., Lisitsyna T.A., Durnev A.D. *Single-cell alkaline gel electrophoresis to assess the genotoxic properties of natural and synthetic compounds: methodical recommendations* [[Primenenie metoda shchelochnoogo gel'-elektroforeza izolirovannykh kletok dlya ocenki genotoksicheskikh svoystv prirodnnykh i sinteticheskikh soedineniy: Metodicheskie rekomendacii]. Moscow; 2006. (in Russian)
9. Chausheva A. Analysis of the genetic stability of multipotent human mesenchymal stromal cells in culture. *Cand. med. sci. diss. Moscow*; 2012. (in Russian)
10. Glantz S.A. *Primer of Biostatistics*. 3<sup>rd</sup> ed. New-York – Toronto: McGraw-Hill; 1992.
11. Zar J.H. *Biostatistical Analysis*. 2<sup>nd</sup> ed. New Jersey: Prentice Hall; 1984.
12. Kravchenko L.V., Trusov N.V., Uskova M.A., Aksekov I.V., Avreneva L.I., Guseva G.V. et al. Characterization of the acute toxic effect of carbon tetrachloride as a model of oxidative stress. *Toksikologicheskii vestnik*. 2009; 1: 12–18. (in Russian)
13. Petrakova O.S., Chernioglo E.S., Terskih V.V., Kalistratova E.N., Vasil'ev A.V. Cellular technologies in the treatment of liver pathologies. *Acta naturae*. 2012; 4(3(14)): 18–33. (in Russian)
14. Nartaylakov M.A., Muslimov S.A., Yangirov I.V. Possibilities of stimulating regeneration of cirrhotic liver with fetal and biological materials. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2006; 1(1): 1–12. (in Russian)
15. Abdulkadyrov K.M., Balashova V.A. Cellular composition of the liver and spleen in the fetal period. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2008; 3(1): 46–8. (in Russian)
16. Pirogova I.Yu., Pyshkin S.A. Regenerative therapy of chronic hepatitis and liver cirrhosis by fetal tissue transplantation. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2008; 3(1): 57–61. (in Russian)

### ОБ АВТОРАХ:

**Шабашева Лилия Владимировна (Shabasheva Liliia Vladimirovna)**, старший научный сотрудник, ФГУП НИИ гигиены профпатологии и экологии человека ФМБА России, 188663, Санкт-Петербург, Российская Федерация. E-mail: shabash69@gmail.com

**Протасова Галина Аркадьевна (Protasova Galina Arkadevna)**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФГУП НИИ гигиены профпатологии и экологии человека ФМБА России, 188663, Санкт-Петербург, Российская Федерация. E-mail: GalaSR@mail.ru

**Попов Вадим Борисович (Popov Vadim Borisovich)**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, ФГУП НИИ гигиены профпатологии и экологии человека ФМБА России, 188663, Санкт-Петербург, Российская Федерация. E-mail: vpopovlr@mail.ru