

УДК 57.043:57.089.36:616.36-002

П.П. ПАШИНСКИЙ, Н.П. СУББОТА\*

## Влияние экстракта хориона на функциональное состояние гепатоцитов крыс *in vitro* и *in vivo*

UDC 57.043:57.089.36:616.36-002

P.P. PASHINSKY, N.P. SUBBOTA\*

## Chorion Extract Effect on Functional State of Rat Hepatocytes *In Vitro* and *In Vivo*

Проведено экспериментальное исследование действия криоэкстракта хориона (КХ) на морфофункциональные свойства изолированных гепатоцитов при гипотермическом хранении, а также в составе органа при отравлении крыс  $\text{CCl}_4$ . Показано, что при гипотермическом хранении гепатоцитов в сахарозно-солевой среде биодобавка в виде КХ пролонгирует их жизнеспособность, о чем свидетельствуют показатели интенсивности биосинтеза белка и степени исключения клетками суправитального красителя. Введение КХ животным при отравлении  $\text{CCl}_4$  позволяет снизить интенсивность перекисного окисления липидов (уменьшение МДА-продукции), показатели цитолиза (уменьшение активности ферментов АлАТ и АсАТ), холестаза (снижение активности щелочной фосфатазы), накопление токсичных продуктов обмена (снижение уровня билирубина); увеличить активность антиокислительных систем (активность супероксиддисмутазы). Введение биопрепаратов хориона при отравлении животных  $\text{CCl}_4$  более эффективно на этапах, предшествующих развитию печеночной недостаточности.

**Ключевые слова:** экстракт хориона, криоконсервирование, гипотермическое хранение, изолированные гепатоциты, функциональное состояние.

Проведено експериментальне дослідження дії криоекстракту хоріона (КХ) на морфофункціональні властивості ізольованих гепатоцитів при гіпотермічному зберіганні, а також у складі органа при отруєнні щурів  $\text{CCl}_4$ . Показано, що при гіпотермічному зберіганні гепатоцитів у сахарозно-сольовому середовищі біодобавка у вигляді КХ пролонгує їх життєздатність, про що свідчать показники інтенсивності біосинтезу білка і ступеня виключення клітинами суправітального барвника. Введення КХ тваринам при отруєнні  $\text{CCl}_4$  дозволяє зменшити інтенсивність перекисного окислення ліпідів (зменшення МДА-продукції), показники цитолізу (зменшення активності ферментів АлАТ і АсАТ), холестазу (зниження активності лужної фосфатази), накопичення токсичних продуктів обміну (зниження рівня білірубину); збільшити активність антиокислювальних систем (активність супероксиддисмутазы). Введення біопрепаратів хоріона при отруєнні тварин  $\text{CCl}_4$  більш ефективно на етапах, які передують розвитку печінкової недостатності.

**Ключові слова:** екстракт хоріона, криоконсервування, гіпотермічне зберігання, ізольовані гепатоцити, функціональний стан.

There have been performed the experiments on studying the effect of chorion cryoextract (CC) on morphofunctional properties of isolated hepatocytes during hypothermic storage as well as a part of an organ during rats' poisoning with  $\text{CCl}_4$ . It has been shown that at hypothermic storage of hepatocytes in sucrose-saline medium a bioadditive as chorion cryoextract prolongs their viability that is confirmed by the indices of protein biosynthesis and the exclusion rate of supravital dye. Introduction of chorion cryoextract to the animals at  $\text{CCl}_4$  poisoning reduces the intensity of lipid peroxidation (decrease in MDA production), cytolysis indices, cholestasis, accumulation of toxic exchange products (bilirubin level decrease), increases the activity of antioxidative systems (activity of superoxide dismutase). Introduction of chorion biological preparations during poisoning of animals with  $\text{CCl}_4$  is more effective at the stages, preceding the development of hepatic insufficiency.

**Key-words:** chorion extract, cryopreservation, hypothermic storage, isolated hepatocytes, functional state.

Анализ научной литературы свидетельствует, что препараты плацентарного комплекса являются эффективными биогенными стимуляторами, восстанавливающими метаболизм тканей и клеток при ряде патологических процессов [1, 7, 9], что определяет их широкое использование в экспериментальных исследованиях.

Analysis of scientific literature testifies that the preparations of placental complex are effective biogenic stimulators recovering metabolism of tissues and cells at some pathological processes [1, 7, 9], that determines their wide use in experiments.

The research aim was a comparative study of the effect of chorion cryoextract (CC) on morphofunc-

Харьковский национальный педагогический университет  
им. Г.С. Сковороды

Kharkov National Pedagogical University  
named by G.S. Skovoroda, Kharkov, Ukraine

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Блюхера, 2, г. Харьков, Украина 61168; тел.:+38 (0572)  
68-42-34

\* To whom correspondence should be addressed: 2, Blukhera str.,  
Kharkov, Ukraine 61168; tel.:+380 572 68 4234

Целью настоящей работы было сравнительное изучение влияния криоэкстракта хориона (КХ) на морфофункциональные свойства изолированных гепатоцитов при гипотермическом хранении, а также в составе органа при отравлении крыс  $CCl_4$ .

### Материалы и методы

Исходным материалом для получения биопрепаратов был хорион, из которого получали экстракт по ранее разработанному методу с разрешения комитета по биоэтике [9].

Экспериментальная часть работы проведена в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001) и согласованными с положениями “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985).

Модельной системой острого токсического поражения *in vitro* служила суспензия гепатоцитов крысы (концентрация –  $2 \times 10^6$  клеток в 1 мл), полученная коллагеназным методом [3]. Жизнеспособность клеток в суспензии, определённая по исключению красителя трипанового синего, составляла 90% [12]. Суспензию хранили в условиях бытового холодильника при гипотермической температуре (2-4°C) в течение 24, 48 и 72 ч в стандартной сахарозно-солевой среде выделения (СВ) – контроль, а также в СВ с добавлением КХ.

Изучение действия биопрепарата КХ в модельной системе *in vivo* проводили на беспородных крысах-самцах массой 200-220 г с острым токсическим поражением печени.

Биопрепараты КХ стандартизировали по объёму (1,0 мл), содержанию белка [11], их вводили животным внутрибрюшинно: одной группе – сразу после отравления, а другой – через 24 ч после введения  $CCl_4$ .

Острое токсическое поражение печени вызывали одноразовым внутрибрюшинным введением масляного 50%-го раствора  $CCl_4$  в дозе 0,2 мл на 100 г массы тела. Контрольной группе животных внутрибрюшинно вводили аналогичный объём стерильного рапсового масла [4], которое стерилизовали на водяной бане (100°C) в течение 30 мин.

Биохимические показатели в плазме крови и печени крыс с острым токсическим поражением печени контролировали через 24, 48 и 72 ч после введения  $CCl_4$ .

Исследованные в работе показатели функционального состояния гепатоцитов представлены в табл. 1.

Результаты исследований статистически обрабатывали параметрическим методом с использованием t-критерия Стьюдента.

tional properties of isolated hepatocytes during hypothermic storage as well as a part of an organ during poisoning the rats with  $CCl_4$ .

### Materials and methods

Initial material for obtaining biological preparations was the chorion, and the extract was derived from it according to previously developed method with the Bioethical Committee permission [9].

Experiments were performed in accordance with “General principles of experiments in animals”, approved by the 1<sup>st</sup> National Congress on Bioethics (Kiev, 2001) and coordinated with the issues of “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1985).

Rat’s hepatocyte suspension (with cell concentration of  $2 \times 10^6$  per 1 ml), obtained with collagenase method was *in vitro* model system [3]. Cell viability in suspension examined on the exclusion of trypan blue made 90% [12]. The suspension was stored in a domestic refrigerator at hypothermal temperature (2-4°C) for 24, 48 and 72 hrs in standard sucrose-saline isolation medium (IM) – control as well as IM with adding CC.

Biological preparation effect in model system *in vivo* was studied in breedless male rats of 200-220g with an acute toxic liver damage.

**Таблица 1.** Показатели функционального состояния гепатоцитов, исследованные при работе в системах *in vivo* и *in vitro*

**Table 1.** Indices of functional state of hepatocytes, studied *in vivo* and *in vitro*

<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
В печени In liver	Жизнеспособность Viability
1. Интенсивность ПОЛ (содержание МДА) [7] 2. Состояние антиокислительной системы (активность СОД) [2]	1. Окраска клеток с трипановым синим [12] 2. Интенсивность процессов биосинтеза белка (включение $^{14}C$ -лейцина в суммарные белки)
1. LPO intensity (MDA content) [7] 2. State of anti-oxidative system (SOD activity) [2]	1. Cell staining with trypan blue [12] 2. Intensity of protein biosynthesis processes ( $^{14}C$ -leucin inclusion into total proteins)
В плазме крови In blood plasm	
3. Показатели пигментного обмена (уровень билирубина) [5] 4. Цитолитический синдром (активность ААТ и АсАТ) [6] 5. Степень холестаза (активность ЦФ) [5]	
3. Indices of pigment exchange (bilirubin level) [5] 4. Cytolytic syndrome (ALAT and AsAT activity) [6] 5. Cholestasis degree (AP activity) [5]	

## Результаты и обсуждение

Результаты, полученные при гипотермическом хранении суспензии гепатоцитов, представлены в табл. 2. Жизнеспособность гепатоцитов, оцененная по исключению суправитального красителя в стандартной среде, снижалась и через 72 ч составляла 35%. Среда, содержащая биодобавку, обеспечивала уровень сохранности гепатоцитов в пределах 55%, т.е. на 20% выше, чем в контрольной группе. Однако показатели по исключению красителя, как известно, не позволяют в полной мере выявить различия в структурно-функциональном состоянии клеток. Исходя из этого, мы использовали тест, требующий для выполнения функции согласованной работы ряда систем. Таким тестом является способность клеток синтезировать белок [5] (табл. 2).

Показано, что уже через 24 ч включение меченой аминокислоты в суммарные белки в контрольной группе и группе с содержанием КХ было одинаковым (снижалось на 21%). Через 48 ч после использования среды с биодобавкой КХ способность клеток синтезировать белок была на уровне показателей, полученных при 24 ч хранения суспензии в СВ. Эффективность биодобавки сохранялась и при более длительном гипотермическом хранении: через 72 ч в среде СВ+КХ синтез белка клетками был на 20% выше, чем в СВ.

На основании проведенных экспериментальных исследований можно считать, что при развитии нарушений структуры и функции гепатоцитов в условиях гипотермического хранения криоконсервированная биологическая добавка в виде КХ позволяет значительно повысить синтез белка и сохранность гепатоцитов.

Полученные результаты позволяют предположить, что при патологических состояниях организ-

Biological preparations of CC were standardized on volume (1.0 ml), protein content [11], they were introduced to animals intraperitoneally: to one group just after animals' poisoning and to another in 24 hrs after animals poisoning with  $CCl_4$ .

An acute toxic liver damage of animals was induced with a single intraperitoneal introduction of 50% butyric  $CCl_4$  solution in a dose of 0.2 ml per 100g of body mass. Control animals were intraperitoneally introduced with the same volume of sterile rape oil [4], sterilized on water bath (100°C) for 30 min.

Biochemical indices in blood plasma and liver of rats with an acute toxic damage of liver were controlled in 24, 48, 72 hrs after  $CCl_4$  introduction.

The studied indices of functional state of hepatocytes were presented in Table 1.

Research results were statistically processed with parameter test using Student's t-criterion.

## Results and discussion

Results obtained under hypothermal storage of the suspension of hepatocytes are demonstrated in Table 2. Viability of hepatocytes assessed on the exclusion of supravital dye in a standard medium reduced and in 72 hrs it made 35%. The medium with a biological additive provided the survival rate for hepatocytes up to 55%, i.e. by 20% higher than in the control group. However indices on dye exclusion as it is known are not completely helpful in revealing the differences in structural and functional cell state. Therefore there was used the test requiring a coordinated activity of some systems for the cell function performance, i.e. the ability of cells for protein synthesizing [5] (Table 2).

It has been shown that in 24 hrs the inclusion of labelled amino acid into total proteins of the control group and the one with CC was similar (reduced by

**Таблица 2.** Динамика включения меченой аминокислоты (А) (имп/мин) в суммарные белки и жизнеспособность гепатоцитов (В) при гипотермическом хранении (%), n=7

**Table 2.** Dynamics of inclusion of labeled aminoacid (A) (count/min) into total proteins and viability of hepatocytes B under hypothermic storage (%), n=7

Среда хранения Storage medium	Время хранения,ч Storage time,hrs							
	0		24		48		72	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Контрольная среда СВ Control IM	48068±2000	90±8	38090±1600 <sup>#</sup>	80±7	24037±1600 <sup>*,#</sup>	65±7 <sup>#</sup>	18500±1600 <sup>#</sup>	35±5 <sup>*</sup>
СВ + КХ IM + CC	48070±2150	88±8	40 070±1680 <sup>*</sup>	75±8	40420±1400 <sup>*</sup>	75±8	22270±1600 <sup>*</sup>	55±5 <sup>#</sup>

**Примечания:** <sup>#</sup> – различия достоверны по сравнению с 0 ч, p<0,05;  
<sup>\*</sup> – различия достоверны по сравнению с контрольной средой, p<0,05.  
 Notes: <sup>#</sup> – differences are statistically significant in comparison with 0 hr, p<0.05;  
<sup>\*</sup> – differences are statistically significant in comparison with the control, p<0.05.

ма гепатопротекторный и/или восстанавливающий эффект препарата может быть реализован не только в модельной системе *in vitro*, но, по-видимому, и *in vivo*.

Анализ биохимических показателей, характеризующих печеночный метаболизм у крыс, после введения  $CCl_4$  свидетельствует об их изменениях (табл. 3). При отравлении животных наблюдаются увеличение в плазме крови активности ферментов АлАТ и АсАТ (показатели цитолиза), ЩФ (показатели холестаза), концентрации билирубина (накопление продуктов обмена пигментов), а также снижение антиоксидантной активности (снижение активности СОД) и увеличение интенсивности процессов ПОЛ (концентрация МДА) в печени.

При введении КХ животным с нарушениями метаболизма наблюдались стимуляция активности СОД в 2 раза и снижение продукции МДА в 1,9 раза, содержания билирубина в крови животных в 1,6 раза. Активность ЩФ при этом снизилась практически в 3 раза.

Была исследована возможность ускорения восстановительных процессов в пораженной печени при введении препаратов КХ одновременно с отравлением (табл. 3).

Показано достоверное снижение активности ферментов цитолиза и накопления МДА, а также более выраженное увеличение активности СОД, чем при использовании КХ как препарата восстанавливающего действия.

21%). In 48 hrs when using the medium with CC biological additive the cell ability for protein synthesizing was at the level of indices obtained in 24hrs of suspension storage in IM.

Efficiency of biological additive preserved even at longer hypothermal storage: in 72 hrs in the medium with additive of chorion extract the protein synthesis by cells was by 20% higher than that for IM.

The performed experiments may testify to the fact that during development of impairments in structure and function of hepatocytes under hypothermia cryopreserved biological additive as CC enables significant increasing of protein synthesis and survival of hepatocytes.

Obtained results enable the supposing that under pathological states of an hepatoprotective and/or recovering effect of preparation may be realized not only in model system *in vitro* but probably *in vivo*.

Analysis of biochemical indices characterising hepatic metabolism in rats testifies to their changes (Table 3). During poisoning of animals there was observed a rise in the activity of AlAT and AsAT enzymes (cytolysis parameters) in blood plasma, alkaline phosphatase (cholestasis parameters) and bilirubin concentration (accumulation of the products of pigment exchange), as well as reduction of antioxidative activity (SOD activity) and acceleration of LPO intensity processes (MDA concentration) in liver.

When introducing CC to the animals with metabolism impairments there was observed the stimulation

**Таблица 3.** Биохимические показатели в плазме и печени крыс через 72 ч после отравления животных  $CCl_4$ , введения КХ и “фармакологической подготовки”, n=12

**Table 3.** Biochemical indices in rat liver plasm following 72 hrs after animal poisoning with  $CCl_4$ , CC introduction and “pharmacological preparation”, n=12

Вид препарата Preparation type	Плазма крови Blood plasm			Печень Liver		
	АлАТ, мкмоль/ч на 1 мл AlAT μmol/hr per 1 ml	АсАТ, мкмоль/ч на 1 мл AsAT μmol/hr per 1 ml	Билирубин, мкмоль/л Bilirubin, μmol/l	ЩФ, ЕД/л AP, Units/l	СОД, мкмоль/ч на 1 мг белка SOD, μmol/hr per 1 mg protein	МДА, мкмоль/ч на 1 мг белка MDA, μmol/hr per 1 mg protein
Контроль Control	0,78±0,09	0,75±0,23	10,5±0,3	150,0±3,4	0,580±0,120	120,3±3,05
Отравление $CCl_4$ без введения препарата $CCl_4$ poisoning with no preparation introduction	4,72±1,10*	3,9±0,52*	30,5±2,8*	623,0±44,8*	0,180±0,010	282,00±8,60*
Введение препарата через 24 ч после введения $CCl_4$ Preparation introduction in 24 hrs after $CCl_4$ poisoning	2,17±0,15	1,60±0,10	16,8±0,9	218,2±11,0	0,320±0,034*	150,2±11,30
Сочетанное введение препарата и отравление $CCl_4$ Combined preparation introduction with $CCl_4$ poisoning	1,85±0,08*	1,36±0,10*	14,0±0,4*	180±5,0*	0,43±0,027*	135,2±4,5*

**Примечание:** \* – различия достоверны по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ .

**Note:** \* – differences are statistically significant in comparison with the control,  $p < 0,05$

Таким образом, КХ на фоне острого токсического воспаления, развившегося вследствие отравления  $CCl_4$ , оказывает восстанавливающий эффект различной степени. Об этом свидетельствуют биохимические показатели, являющиеся индикаторами структурного и функционального состояния гепатоцитов и определяющие метаболическую активность органа в целом.

### Выводы

При гипотермическом хранении гепатоцитов в сахарозно-солевой среде биодобавка в виде КХ пролонгирует их жизнеспособность, о чем свидетельствуют показатели интенсивности биосинтеза белка и степени исключения клетками суправитального красителя – трипанового синего.

Введение КХ животным при отравлении  $CCl_4$  позволяет снизить интенсивность ПОЛ (уменьшение МДА-продукции), показатели цитолиза (уменьшение активности ферментов АлАТ и АсАТ), холестаза (снижение активности ЩФ), накопление токсичных продуктов обмена (снижение уровня билирубина); увеличить активность антиокислительных систем (активность СОД).

Применение биопрепаратов хориона при отравлении животных  $CCl_4$  более эффективно на этапах, предшествующих развитию печеночной недостаточности, что позволяет в плазме крови снизить активность ферментов цитолиза, активировать работу естественных антиокислительных систем, уменьшить интенсивность процессов ПОЛ.

### Литература

1. Грищенко В.И., Сандомирский Б.П. Концепция клеточной терапии // Пробл. криобиологии.– 2000.– №1.– С. 3-6.
2. Дисордисеску П., Пэупеску Е. Биохимические методы диагноза и исследования.– Бухарест: Мед. изд-во, 1963.– 248 с.
3. Канаева И.Л., Карякин А.В., Иленичева Т.В. и др. Дыхание и окислительное фосфорилирование в изолированных клетках печени // Цитология.– 1975.– Т. 17, №5.– С. 545-552.
4. Клиш І.М. Особливості перебігу окисно-відновних процесів у печінці щурів різного віку за токсичного ураження тетрахлорметаном // Укр. біохім. журн.– 1998.– Т. 70, №6.– С. 106-109.
5. *Лабораторные методы* исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова.– М.: Медицина, 1987.– С. 225-227.
6. *Методические указания* по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследования / Под ред. В.В. Меньшикова.– М.: Медицина, 1973.– 120 с.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового альдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии.– М.: Медицина, 1977.– С. 66-67.
8. Субота Н.П., Питько В.А., Грищенко В.І. Біохімічні та імунологічні механізми дії трансплантованих фетальних препаратів // Трансплантологія.– 2000.– Т. 1, №1.– С. 290-292.

of SOD activity twice and reduction of MDA production in 1.9 times, bilirubin content in blood of animals in 1.6 times. AP activity therewith reduced practically thrice.

The possibility of acceleration of recovering processes in damaged liver when using CC preparations together with poisoning was studied (Table 3).

There has been shown a statistically significant reduction of the activity of cytolysis and MDA accumulation enzymes, as well as more manifested increase in SOD activity than when using the CC as the preparation of recovering effect.

Thus the CC use during treatment of acute toxic inflammation developed due to  $CCl_4$  poisoning renders recovering effect of different extents. This is confirmed by biochemical parameters being the indicators of structural and functional state of hepatocytes, determining metabolic activity in a whole.

### Conclusions

Under hypothermal storage of hepatocytes in sucrose-saline medium a biological additive as the CC prolongs their viability, that is confirmed by the indices of protein biosynthesis intensity and exclusion rate by cells of supravital dye, trypan blue.

CC introduction to animals when poisoning with  $CCl_4$  allows the reducing of LPO intensity, (reduction in MDA production), parameters of cytolysis (decrease in the activity of AlAT and AsAT enzymes), cholestasis (reduced AP activity), accumulation of the exchange of toxic products (decrease of bilirubin level), and the increasing of anti-oxidative systems (SOD activity).

Application of chorion biopreparations during poisoning of animals with  $CCl_4$  is more effective at the stages preceding the development of hepatic insufficiency that allows in blood plasma to reduce the activity of cytolysis enzymes, activate the functioning of natural antioxidative systems, and reduce the intensity of LPO processes.

### References

1. *Grischenko V. I., Sandomirsky B. P.* Concept of cell therapy // Problems of Cryobiology.– 2000.– N1.– P. 3-6.
2. *Disordisesku P., Peupesku E.* Biochemical methods of diagnoses and researches. – Bucharest: Med. Publishing House, 1963.– 248 p.
3. *Kanayeva I.L., Karyakin A.V., Ilenicheva T.V. et al.* Respiration and oxidative phosphorylation in liver isolated cells // Tsitologiya.– 1975.– Vol. 17, N5.– P. 545-552.
4. *Klish I.M.* Redox course peculiarities in rat's liver of different age at toxic damage by tetrachloromethane // Ukr. Biokhim Zhurn.– 1998.– Vol. 70, N6.– P. 106-109.
5. *Laboratory research methods in clinics* / Ed. by V. V. Menshikov. – Moscow: Meditsina, 1987. – P. 225-227.
6. *Methodical recommendations* on application of unified clinical laboratory research methods / Ed. by V.V. Menshikov.– Moscow: Medicine, 1973.– 120 p.

9. Суббота Н.П., Грищенко В.И., Путько В.А. и др. Получение, хранение и применение фрагментов, суспензий и криоэкстракта хориона: Метод. рекомендации.– Харьков, 1997.– 5 с.
10. Сухих Г.Т., Богданова И.М., Малайцев В.В. Иммунологические аспекты трансплантации фетальных клеток // Бюл. эксперим. биологии и медицины.– 1998.– Т. 125, №2, Прил. 1.– С. 178-181.
11. Lowry J., Rosenbrongh H., Farr A., Randell R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.– 1951.– Vol. 193, N2.– P. 265-275.
12. Seglen P. O. Preparation of isolated rat liver cells // Meth. Cell Biol.– 1976.– Vol. 13, N1.– P. 29-83.
7. Stalnaya I.D., Garishvili T.G. Methods of determining malone aldehyde with triobarbituric acid // In: Contemporary biochemical methods.– Moscow: Meditsina, 1977.– P. 66-67.
8. Subbota N.P., Pitko V.A., Grischenko V.I. Biochemical and immunologic mechanisms of transplanted fetal preparation action // Transplantologiya.– 2000.– Vol. 1, N1.– P. 290-292.
9. Subbota N.P., Grischenko V.I., Pitko V.A. et al. Obtaining, preservation and application of fragments, suspensions and cryoextract of chorion: Methodical recommendations.– Kharkov, 1997.– 5 p.
10. Sukhikh G.T., Bogdanova I.M., Malaytsev V.V. Immunological fetal cell transplantation aspects // Bul. Experim. Biol. Med.– 1998.– Vol. 125, N2.– P. 178-181.
11. Lowry J., Rosenbrongh H., Farr A., Randell R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.– 1951.– Vol. 193, N2.– P. 265-275.
12. Seglen P. O. Preparation of isolated rat liver cells // Meth. Cell Biol.– 1976.– Vol. 13, N1.– P. 29-83.

*Поступила 11.10.2005*

*Accepted in 11.10.2005*