

ЭВОЛЮЦИЯ БИОРЕАКТОРОВ ДЛЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ПОДДЕРЖКИ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

УДК 616.36–008–092.4/9:628.02

Поступила 14.10.2013 г.

Е.В. Вилкова, аспирант, инженер кафедры биомедицины¹;

Е.И. Черкасова, к.б.н., зав. научно-учебной лабораторией НИИ «Институт живых систем»¹;

В.Е. Загайнов, д.м.н., зав. кафедрой хирургических болезней²;

Е.В. Загайнова, д.м.н., зав. кафедрой биомедицины¹; директор НИИ биомедицинских технологий²

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского — Национальный исследовательский университет, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

²Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603000, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Разработка эффективных экстракорпоральных систем поддержки функций печени при острой и хронической печеночной недостаточности для решения задач трансплантологии и при токсических поражениях является перспективным направлением современных биомедицинских исследований. Широко применяемые методы основаны на использовании физико-химических взаимодействий биологических молекул и способны выполнять исключительно детоксикационную функцию (гемодиализ, гемофильтрация, гемодиализация, сорбция, альбуминовый диализ, плазмаферез). Однако в последние десятилетия наиболее активно разрабатываются системы поддержки, совмещающие функции перфузии крови/плазмы и клеточные технологии для поддержания метаболической, синтетической и регуляторной функций печени, — системы «искусственной печени». В обзоре рассмотрены основные типы клеточных линий, культивируемых для заселения биореакторов, различные технологические решения конструирования биореакторов (динамические, статические), скаффолдов-носителей в составе биореакторов (строение, биохимический состав). Охарактеризованы особенности метаболизма клеточной составляющей «биоискусственной печени»: питание, кислородное насыщение. Описаны разнообразные типы существующих экстракорпоральных систем поддержки, их эволюция и результаты доклинических и клинических испытаний.

Ключевые слова: искусственная система поддержки печени; биореактор; клеточные культуры; «биоискусственная печень».

English

Evolution of Bioreactors for Extracorporeal Liver Support

E.V. Vilkova, Postgraduate, Engineer, the Department of Biomedicine¹;

E.I. Cherkasova, PhD, Head of Research and University Laboratory, Scientific Research Institute “Institute of living systems”¹;

V.E. Zagaynov, D.Med.Sc., Head of the Department of Surgical Diseases²;

E.V. Zagaynova, D.Med.Sc., Head of the Department of Biomedicine¹; Director of Scientific Research Institute of Biomedical Technologies²

¹Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod — National Research University, Prospekt Gagarina, 23, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603950;

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603000

The development of effective extracorporeal liver support systems in acute and chronic hepatic failure for transplantology purposes and in toxic injuries is a promising direction in modern biomedical studies. Widely used techniques are based on physicochemical interactions of biological molecules, and able to perform a detoxification function only (hemodialysis, hemofiltration, hemodiafiltration, sorption, albumin

Для контактов: Черкасова Елена Игоревна, моб. тел. +7 902-306-02-37; e-mail: cherkasova.el@yandex.ru

dialysis, plasmapheresis). However, support systems combining both blood/plasma perfusion and cellular technologies to maintain metabolic, synthetic and regulatory hepatic functions — “artificial liver” systems — are being extensively developed in recent decades. The review describes the main types of cell lines cultured to occupy bioreactors, various technological concepts for bioreactor design (dynamic, static), scaffold-carriers as part of bioreactors (structure, biochemical composition). The study gives metabolic characteristics of a cellular component of “bioartificial liver”: nourishment, oxygen saturation. Various types of existing extracorporeal support systems, their evolution, and preclinical and clinical test results are presented.

Key words: artificial system of liver support; bioreactor; cellular cultures; “bioartificial liver”.

История вопроса

Элементарные сведения о печени и ее сосудах имеются в медицинской литературе Древнего мира. Крупнейший врач и философ Рима К. Гален (H. Galenus; 131–211) изучал функцию и строение печени. Большой вклад в создание научной анатомии человека внес А. Везалий (A. Vesalius; 1514–1564). Следует отметить деятельность Ф. Глиссона (F. Glisson; 1597–1677), который был профессором медицины и анатомии в Кембридже и являлся последователем У. Гарвея. Занимаясь изучением анатомии сердца и топографией сосудов в органах, он впервые описал капсулу, которая покрывает печень. С тех пор она называется глиссоновой капсулой. Ф. Глиссон является автором книги «Анатомия печени» (“Anatomia hepatica”), вышедшей в 1654 г., в которой было впервые подробно представлено строение этого органа. Большое значение в понимании внутренней архитектоники печени имели работы анатомов Рекса (H. Rex; 1888) и Кантли (G. Cantlie; 1897). Значительный вклад в изучение строения печени принадлежит К. Куино (C. Couinaud, 1922–2008). Доработанная и предложенная им в 1954 г. концепция сегментарного деления печени и желчных протоков по сей день является основой хирургической гепатологии. В настоящее время наука, изучающая патологию печени, в связи с большой спецификой выделилась в отдельную дисциплину — гепатологию. Несмотря на длительную историю изучения строения и функционирования печени и по сей день остаются непознанными многие функциональные и регенераторные феномены этого органа.

Печень осуществляет множество жизненно важных функций в организме человека, в основном детоксикационного и синтетического характера. При этом в силу детоксикационной активности печень является органом-мишенью для множества заболеваний. Тяжесть клинических проявлений врожденных или приобретенных заболеваний печени зависит от объема поражения печеночной паренхимы и способности неповрежденных гепатоцитов и стволовых клеток органа компенсировать утрату путем пролиферации. Результатом снижения функциональной активности печени ниже критического уровня является печеночная недостаточность, приводящая последовательно к тяжелым нарушениям работы центральной нервной системы, обмена веществ и в итоге — к смерти [1]. В отличие от сердца, легких и почек, имеющих одну первичную функцию, у печени много жизненно важных для всего организма функций: обмен углеводов и жиров, синтез белков, об-

мен аминокислот, синтез мочевины, биотрансформация лекарств и токсинов, удаление отходов белкового, липидного и пигментного обменов [2]. Печень в отличие от сердца и почек остается на сегодняшний день, пожалуй, единственным органом, чью функцию не удается успешно протезировать искусственным аппаратным комплексом.

В связи с бурным развитием хирургии печени в последние два десятилетия удалось установить многие механизмы стимуляции и торможения регенераторного потенциала фрагментов печени, а также развития печеночной недостаточности. Неуклонным правилом хирургической гепатологии стало оставление у пациента не менее 1% массы печени от массы тела. В условиях фиброза или цирроза печени этот показатель необходимо удваивать или утраивать в зависимости от степени повреждения паренхимы. Меньший по объему пострезекционный фрагмент не регенерирует, состояние трактуется как «синдром малой доли, или small-for-size syndrome» и приводит к фатальной пострезекционной печеночной недостаточности. Для профилактики развития такого состояния за последние 10 лет предложены технологии управляемой стимуляции гипертрофии перспективного фрагмента печени у пациента *in situ*. Наиболее часто применяется посегментарная эмболизация долевой ветви воротной вены (наиболее пораженной доли печени), приводящая к гипертрофии паренхимы контрлатеральной доли; для усиления эффекта возможна комбинация с окклюзионной эмболизацией соответствующей артерии. Наибольшей эффективностью обладает технология ALPPS (Associating Liver Partition and Portal vein Ligation for Staged hepatectomy), позволяющая за 7–9 дней добиться увеличения объема перспективной паренхимы на 78,4% и более [3, 4].

В настоящее время наиболее эффективным и возможным методом лечения острой, пострезекционной и прогрессирующей хронической печеночной недостаточности является трансплантация печени. Выполняются трансплантации целого органа от умершего донора или его части от живого родственного или умершего донора с расчетом на гипертрофию печени в послеоперационном периоде.

При этом доступность трансплантации печени резко ограничена не только в нашей стране, но и за рубежом. Согласно исследованиям за истекшие 10 лет [5], каждый третий пациент не доживает до трансплантации, в основном из-за дефицита донорских органов и длительного процесса поиска совместимого донора.

В целях снижения уровня смертности среди пациен-

тов с печеночной недостаточностью разрабатываются эффективные экстракорпоральные системы поддержки печени до момента трансплантации.

Физико-химические системы поддержки печени

На современном этапе в клинической практике для искусственного замещения функций печени используются отдельно или в комплексе следующие методы: диффузионные (гемодиализ), конвекционные (гемофильтрация), диффузионно-конвекционные (гемодиафильтрация), сорбционные (LPS-сорбция — сорбция липополисахаридных токсинов, плазмасорбция), диффузионно-конвекционно-сорбционные (альбуминовый диализ) и афферентные (плазмаферез) [5, 6]. Все перечисленные методы основаны на использовании физико-химических взаимодействий биологических молекул, при этом из плазмы пациента удаляются уремические токсины малой и средней массы, малые белки, некоторые бактериальные эндотоксины.

Примером одной из известных и широко используемых систем детоксикации является модифицированная система фракционного плазменного разделения и адсорбции — Prometheus (Fresenius Medical Care, Германия). Система Prometheus состоит из диализного аппарата с интегрированным в него модулем для выделения и адсорбции альбумина. Данной системой удаляются альбуминсвязанные и водорастворимые токсины, что облегчает возможность регенерации гепатоцитов [7]. Также в Германии разработана и широко используется молекулярная абсорбирующая рециркулирующая система MARS (молекулярная система повторной циклической адсорбции), которая удаляет водорастворимые и альбуминсвязанные токсины. MARS применяется в клинической практике с 1993 г. Следует отметить высокую стоимость аппаратов и комплектов расходных материалов (несколько тысяч долларов за один сеанс), что ограничивает широкое применение этих систем [8]. В России небольшое число клиник оснащены подобными системами для временной компенсации утраченной функции печени.

Все перечисленные физико-химические системы экстракорпоральной поддержки печени направлены на поддержание пациентов с печеночной недостаточностью в течение короткого временного промежутка, определяемого исходной тяжестью печеночной недостаточности.

Общими недостатками их являются:

1) отсутствие нервных и гуморальных механизмов регуляции, а также связи с другими органами и системами;

2) недостаточность детоксикационной мощности для остановки прогрессирования повреждений печеночной паренхимы [9].

Тем не менее при необходимости замещения функций печени существующие системы очистки крови являются единственным способом поддержания пациента до трансплантации.

В 1991 г. впервые была представлена технология временной трансплантации (подсадки) печени без удаления собственного поврежденного и частично некротизированного органа — Auxiliary partial orthotopic liver transplantation (APOLT) [10, 11]. Метод основан на регенерации и восстановлении собственной печени в течение примерно четырех недель при фульминантной или молниеносной форме печеночной недостаточности. Условием успеха является полное замещение функций печени в этом периоде. При восстановлении собственного органа, доказанном в ходе контрольных морфологических исследований биопсийного материала, трансплантированная донорская печень удаляется и пересаживается следующему нуждающемуся пациенту — «принцип домино» [12]. Несмотря на экзотичность метода, он демонстрирует свою высокую эффективность [13]. Ограничивающие факторы технологии APOLT: может использоваться в узкоспециализированных центрах при наличии уникальной хирургической техники. Метод, к сожалению, не нашел широкого применения в мировой практике.

Поскольку функции печени не исчерпываются исключительно детоксикацией, идеальная экстракорпоральная система должна также поддерживать метаболическую, синтетическую и регуляторную функции [14, 15]. В связи с этим с 80-х гг. XX века активно разрабатываются системы поддержки, совмещающие функции перфузии крови/плазмы и клеточные технологии.

«Биоискусственная печень» и экстракорпоральные системы поддержки функции печени

Строение биореактора «искусственная печень».

В настоящее время разработаны системы поддержки печени с использованием живых культур гепатоцитов — биореакторы типа «искусственная печень». Технологические решения в конструкции биореакторов весьма разнообразны [16]. В целом биореактор можно определить как объемную замкнутую систему, внутри которой выделяются две основные части: зона жизнедеятельности клеток и зона циркуляции плазмы или крови, ограниченные друг от друга полупроницаемой мембраной. После системной очистки крови (детоксикации, диализа) плазма или кровь пациента поступают в биореактор, где гепатоциты обогащают их продуктами синтеза. Из плазмы к гепатоцитам переносятся кислород, нутриенты и токсины, а желчные кислоты, факторы свертываемости крови, липопротеины, аминокислоты и другие продукты метаболизма гепатоцитов при этом поступают обратно в плазму. Мембрана является барьером для различных веществ с большой молекулярной массой (транспортных белков, иммуноглобулинов, липопротеинов), для иммунокомпетентных клеток крови человека. В зависимости от заряда, размера и физико-химических свойств мембраны перенос веществ может осуществляться путем диффузии или конвекции и по градиенту концентрации [17] (рис. 1). Транспорт кислорода, нутриентов, токсинов, продук-

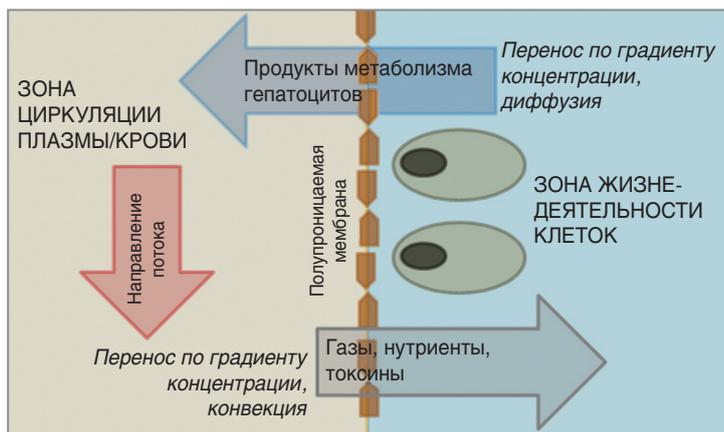


Рис. 1. Схема строения биореактора

тов жизнедеятельности гепатоцитов внутри зоны жизнедеятельности клеток осуществляется путем обычной диффузии [18, 19].

Клеточные культуры в составе биореактора.

В настоящее время основные усилия исследователей сосредоточены на выведении подходящих клеточных линий и развитии оптимальных условий их культивирования в составе биореактора. Особенности клеточного метаболизма являются актуальной темой многочисленных исследований, поскольку для эффективного выполнения биорегулирующей и синтетической функций клетки должны соответствовать нескольким критериям:

- 1) выполнять функции нормального гепатоцита печени (детоксикация, синтез биологически активных веществ);
- 2) быть способными активно пролиферировать (для накопления минимального объема — до 400 г биомассы в составе реактора);
- 3) функционировать в условиях постоянного контакта с плазмой больных с острой печеночной недостаточностью [20].

Известно несколько подходов к созданию эффективно действующих клеточных линий в составе биореактора.

1. Использование аллогенных первичных гепатоцитов, выделенных из донорских тканей [21, 22]. С целью увеличения продолжительности жизни гепатоцитов от взрослого донора в некоторых работах описывается их обработка биологически активными веществами, в частности иммуносупрессантами FK506 и циклоспорином А [23].

2. Использование ксеногенных, имеющих животное происхождение первичных гепатоцитов. В подавляющем большинстве устройств действительно применяются первичные свиные гепатоциты [24, 25]. Данный выбор продиктован нехваткой гепатоцитов человека, сходством функций гепатоцитов человека и свиньи, доступностью последних. Тем не менее использование свиных гепатоцитов сопряжено с определенным риском. Согласно требованиям американской Системы контроля продовольственных и лекарственных средств (Food and Drug

Administration — FDA), для применения свиных гепатоцитов в качестве клеточных линий должны использоваться определенные породы свиней, содержащиеся в надлежащих условиях [26]. Это связано прежде всего с проблемой потенциального развития иммунного ответа у пациентов после перфузии их крови через ксеногепатоциты. Важным также является вопрос защиты свиных гепатоцитов от действия потенциально активных факторов иммунной системы пациентов в период перфузии. Кроме того, хотя функции печени у всех млекопитающих и схожи, но различия все же существуют и ксеногенные гепатоциты не могут выполнять весь комплекс метаболических задач печени человека [27].

3. Использование иммортализованных и генетически модифицированных линий гепатоцитов животных и человека [28]. Это направление на сегодняшний день является самым перспективным [29]. Подобные клетки отличаются неограниченной, но управляемой способностью к делению, минимизируют риск передачи инфекции и сохраняют основные биологические характеристики и функции первичных гепатоцитов [30]. Для культивирования в условиях биореактора используются различные иммортализованные клеточные линии гепатоцитов: из клеток 8-дневного эмбриона свиньи создана линия PICM-19 [31], разработаны человеческие иммортализованные линии гепатоцитоподобных клеток — HepZ [32], HepG2 [33], cBAL111 [34]. Применяется также линия Chang Liver, созданная в 1954 г., однако эта линия, предположительно полученная из опухолевых клеток, имеет ограничения в применении из-за их онкогенного потенциала [35].

Все перечисленные способы получения специализированных монокультур имеют одну особенность: при их использовании отсутствие стимуляции роста гепатоцитов вызывает ограничение количества циклов пролиферации до восьми [36]. Это не позволяет получить достаточное количество нормальных гепатоцитов для заполнения биореактора. К тому же кроме гепатоцитов в нормальной печени присутствуют и другие типы клеток, которые стимулируют их пролиферацию и дифференцировку (купферовские, stellatные) [37], но этих клеток нет при таких подходах.

Вместе с тем ведутся активные исследования по использованию в биореакторах отличных по происхождению клеток и по совместному культивированию нескольких типов клеток [38]. В подобных исследованиях в качестве ко-культур широко применяются как специализированные, так и полипотентные типы клеток. В экспериментальной работе [39] показано, что одновременное культивирование мышинных гепатоцитов с непаренхимными (дуктальными, stellatными и эндотелиальными) клетками человека в матригеле приводит к спонтанному формированию микросинусоидов, экспрессирующих альбумин и цитохромы P450, а также микротканевых структур — предшественников желчных протоков и кровеносных сосудов. Установлено, что совместное культивирование первичных гепатоцитов

человека с эндотелиальными клетками желчных протоков способно благоприятно действовать на обе эти печеночные клеточные линии и стимулировать активное функционирование гепатоцитов [40, 41]. В исследованиях по совместному культивированию первичных гепатоцитов человека и мультипотентных мезенхимальных клеток костного мозга [42, 43] установлено, что выращиваемые в данных условиях гепатоциты обладают большим синтетическим и пролиферативным потенциалом.

Еще одним из путей получения гепатоцитоподобных клеток является использование стволовых клеток различного происхождения. Установлено, что направленная дифференцировка стромальных стволовых клеток костного мозга и жировой ткани позволяет получать клетки, коммитированные в гепатоцитарном направлении. Для осуществления подобной дифференцировки применяют фактор роста фибробластов FGF1 [44], фактор роста гепатоцитов HGF [45], специализированные дифференцировочные среды [46]. Для получения гепатоцитоподобных клеток также используют прогениторные клетки печени, являющиеся предшественниками гепатоцитов и клеток желчных протоков [47].

Однако существуют работы, в которых дифференцировка стромальных стволовых клеток в гепатоцитоподобные происходит за счет применения биологически активных материалов-носителей. В частности, при использовании децеллюляризованной (очищенной от клеток) печени крысы в качестве трехмерного каркаса для роста клеток было обнаружено, что такая биоподложка стимулирует направленную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в зрелые гепатоциты независимо от присутствия в культуральной среде факторов роста [48].

Особенности метаболизма клеток в составе биореактора. Клетки печени в естественных условиях испытывают высокую потребность в питательных веществах, кислороде и крайне чувствительны к изменениям концентрации метаболитов. Поэтому очень важно создать в системе биореактора условия, максимально приближенные к натуральным.

Питание. В живом организме питание клеток обеспечивается разветвленной капиллярной сетью. Расстояние от капилляров до клеток очень небольшое, поэтому кислород и нутриенты проникают в клетки путем диффузии. В искусственной системе такая капиллярная сеть отсутствует. Вследствие этого питательная среда неравномерно распределяется внутри клеточной массы, а синтезированные гепатоцитами вещества не могут в полной мере транспортироваться в кровь пациента [49]. Данная проблема решается несколькими путями, например культивированием гепатоцитов на различных типах проницаемых подложек [50], а также постоянным перемешиванием среды культивирования [51].

Кислородное насыщение. Кислород в культуру поступает из газового слоя над поверхностью среды, и его поступление ограничено коэффициентом растворимости, который достаточно мал. В условиях повышенной клеточной плотности лишь небольшая часть клеток

контактирует непосредственно с поверхностью раздела фаз и может получать кислород путем диффузии [52]. Внутри клеточной массы, где клетки контактируют только друг с другом, кислород практически не переходит от клетки к клетке, в итоге создается острая гипоксия. Решение этой проблемы достигается различными путями. Одним из вариантов является перемешивание среды, чтобы к переносу кислорода путем диффузии добавлялся перенос путем конвекции [53]. В некоторых моделях биореакторов доступ кислорода к клеткам повышается за счет включения в конструкцию дополнительных источников кислорода, в других — используется прямое обогащение кислородом либо питательной среды, либо плазмы или цельной крови [54]. В последнем случае внутри биореактора предусматриваются, например, отдельные пути подачи кислорода.

Скаффолды. Клетки внутри биореактора обычно прикрепляются к какому-либо носителю, замещающему экстрацеллюлярный матрикс [55]. При этом классический монослой практически не используется, а применяется культивирование клеток в трехмерном пространстве, что способствует дифференциации, формированию межклеточных контактов и более высокой жизнеспособности клеток [56]. Клеточные подложки, или скаффолды, могут быть разнообразны по форме и материалу.

1. Скаффолды из природных материалов (коллаген, альгинат, фибронектин, желатин, матригель). Достоинство таких скаффолдов связано с эффективностью прикрепления клеток и их дальнейшей пролиферацией. Но прочность природных материалов недостаточна, а микроархитектура трудно воспроизводится [57].

2. Скаффолды из биосовместимых синтетических материалов. К таким материалам относятся полимеры на основе алифатических полиэфиров: полилактид, полигликолид, их сополимеры и поликапролактон, синтетические полипептиды [58], стекло [59]. Синтетические скаффолды более прочны, их можно формировать в соответствии с требованиями, обусловленными использованием конкретной клеточной линии [56].

3. Скаффолды из смеси природных и синтетических материалов. Как правило, используются поликапролактон и коллаген [60], к ним добавляются некоторые другие компоненты, например альгинат или хитозан [61].

На поверхности материалов должны быть созданы подходящие топологические, морфологические и биохимические условия для прикрепления и пролиферации клеток [62]. Распространение по скаффолду зависит от скорости распределения клеток на его поверхности и скорости проникновения клеток в поры (наружный и внутренний транспорт) [63, 64]. И если наружный транспорт зависит в первую очередь от материала носителя, то внутренний — от соотношения размеров поры и клетки [65].

Наиболее часто используются следующие группы скаффолдов. Первая группа представляет собой тонкие (2–3 мм толщиной) пластинки или диски с пористой поверхностью (рис. 2). Гепатоциты, высеваемые на подложную поверхность, заселяют поры, формируя клас-

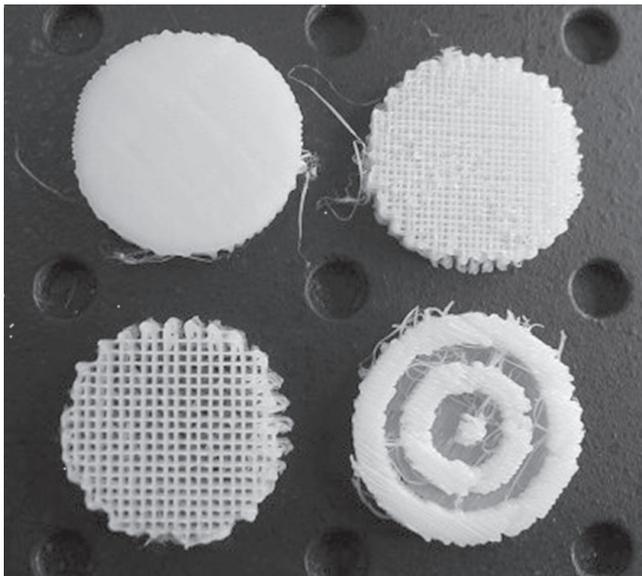


Рис. 2. Внешний вид дисковых полимерных скаффолдов из полилактида [56]

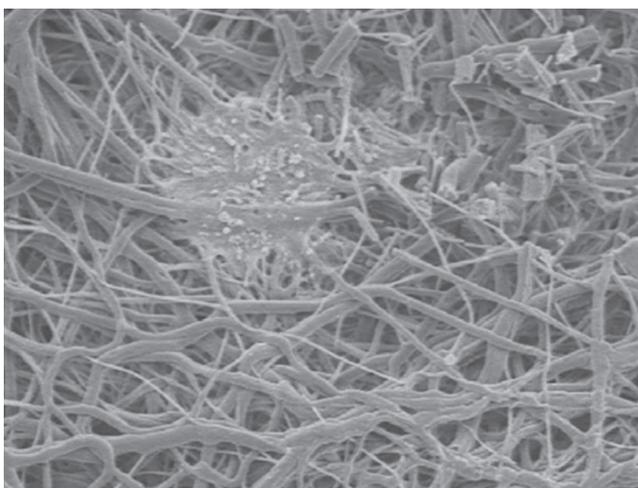


Рис. 3. Электронная фотография области скаффолда, созданного методом электропрядения, $\times 1200$ [67]

теры. Вторая группа — полые мембранные волокна, в которых гепатоциты культивируются на внутренней поверхности. В исследованиях последних лет используются нановолокна из смеси природных и искусственных полимеров [66]. Подобные волокна собираются в трехмерные структуры (рис. 3) различными методами, среди которых большую популярность приобретает электропрядение [67]. Также при создании скаффолдов применяют методы инкапсулирования, когда гепатоциты заключаются в капсулы из фотополимеризуемых гидрогелей [68].

Использование нескольких клеточных культур в составе реактора может способствовать улучшению функционирования гепатоцитов. Например, применение фибробластов 3T3-J2 в качестве фидерного слоя приводит к увеличению секреции мочевины и альбумина гепатоцитами [69]. Экспериментально показано,

что гепатоциты способны не только адгезироваться к поверхности материала, но и самоорганизовываться в кластеры [70]. А при совместном культивировании гепатоцитов с эндотелиальными клетками образуются микрососуды и капилляры, таким образом имитируется ткань печени [40]. Поэтому взаимодействие между различными типами клеток также должно учитываться при создании тканево-инженерных конструкций.

Конструкции биореакторов. Для эффективной работы биореактора необходимо, с одной стороны, оптимизировать транспорт питательных веществ и метаболитов к клеткам, а с другой — как можно более эффективно реализовать систему доставки плазмы к гепатоцитам. При достижении этого возникают некоторые технические проблемы, которые в разных типах реакторов решаются по-разному [71]. Все конструкции биореакторов можно разделить на две большие группы — статические и динамические.

В *статических биореакторах* (рис. 4) клетки (одиночные [72] или организованные в сфероидные структуры [73, 74]) высеивают на поверхность скаффолдов, где впоследствии они распространяются внутрь под действием силы тяжести и капиллярных сил. Скаффолды с клетками омываются средой и окружены полупрони-

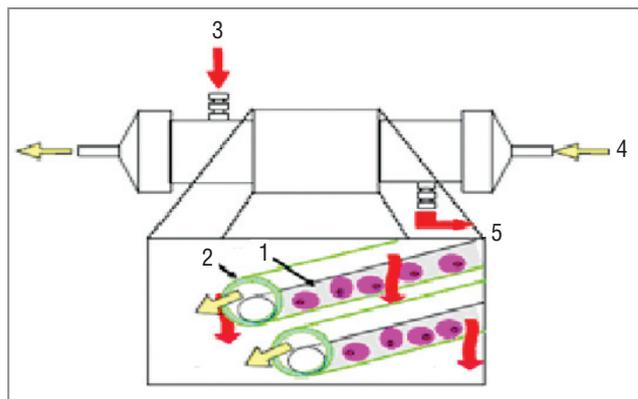


Рис. 4. Схема статического биореактора [75]: 1 — гепатоциты, прикрепленные к скаффолду; 2 — полупроницаемая мембрана; 3 — направление входящего потока плазмы или крови; 4 — направление входящего потока среды; 5 — направление исходящего потока плазмы или крови

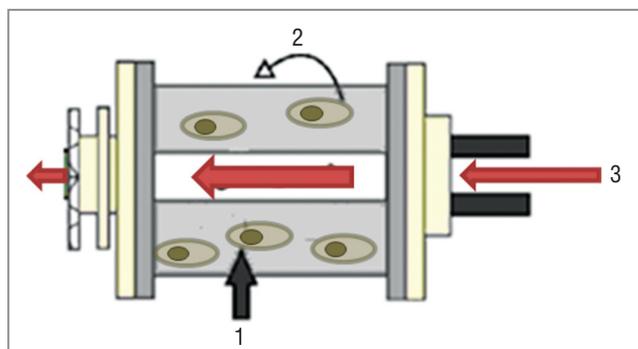


Рис. 5. Схема динамического биореактора [35]: 1 — агрегаты гепатоцитов; 2 — направление вращения корпуса; 3 — направление входящего потока плазмы или крови

цаемой мембраной, через которую происходит обмен метаболитами. Поток плазмы или крови омывает мембрану, давая возможность кислороду, нутриентам и токсинам проникнуть к гепатоцитам. Продукты метаболизма клеток при этом поступают в плазму или кровь [75, 76].

В динамических биореакторах (рис. 5) клетки также высеваются на скаффолды, окруженные полупроницаемой мембраной, снаружи которой осуществляется ток плазмы или крови, а затем вся система приходит в движение. Используются магнитные мешалки или вращающийся корпус. Вращение скаффолдов приводит к лучшему распределению клеток внутри них: клетки проникают сквозь поры и занимают все полезное пространство скаффолда. Это способствует более высокой пролиферации клеток и увеличению срока их жизни [27, 67]. Также вследствие постоянного вращения клетки лучше омываются питательной средой, эффективнее осуществляется обмен метаболитами между плазмой или кровью пациента и гепатоцитами [2]. В результате клетки не испытывают кислородного голодания и недостатка питательных веществ. Большинство современных реакторов являются динамическими.

Разнообразие технических решений биореакторов. К настоящему времени в клинических условиях выполнено небольшое количество исследований, поэтому можно лишь предварительно оценить определенные успехи и дальнейшие перспективы. Основные типы конструкций биореакторов «искусственная печень» представлены в таблице.

Первое сообщение о клиническом использовании «биоискусственной печени» опубликовано в 1987 г.

K.N. Matsumura с соавт. [77] получили положительный эффект у пациента с печеночной недостаточностью, развившейся вследствие карциномы желчных протоков. Используемое устройство состояло из пластины диализатора с высокопроницаемыми целлофановыми мембранами, на которых были иммобилизованы гепатоциты. В это же время группой под руководством M.S. Margulis [78] были проведены клинические испытания «биоискусственной печени» на пациентах с острой печеночной недостаточностью. Биореактор состоял из колонки с активированным углем и суспензии гепатоцитов, удерживаемых с помощью нейлонового фильтра. Кровь пациентов перфузировалась через устройство в среднем 6 ч, замену колонки проводили через каждый час, поскольку суспензия единичных клеток быстро теряла метаболическую активность.

J.C. Gerlach в 1997 г. [64] описан сложный четырехкомпонентный биореактор на основе полых мембранных волокон, взаиморасположение которых моделировало естественную сосудистую сеть. Трехмерная конструкция включала в себя волокна из полупроницаемой мембраны, организованные в плоские структуры. Повторяющимся элементом сети являлись три гидрофильных волокна, два из которых были заселены клетками, а третий предназначался для подачи кислорода и удаления углекислого газа. Свиные или человеческие паренхиматозные и непаренхиматозные печеночные клетки культивировались на наружной части волокон. Плазма поступала в просвет мембранных пучков, фильтровалась через мембраны, омывала клетки и возвращалась к пациенту. Для данного реактора была установлена повышенная выживаемость клеток и эффективное использование имеющейся клеточной мас-

Основные типы биореакторов «искусственная печень»

Авторы	Год	Тип клеток	Результаты
Matsumura K.N. et al. [77]	1987	Гепатоциты человека	Положительный эффект у пациента с печеночной недостаточностью
Margulis M.S. et al. [78]	1989	Гепатоциты человека	Проведены клинические испытания
Gerlach J.C. [64]	1997	Свиные, впоследствии человеческие гепатоциты	Биореактор с человеческими гепатоцитами проходит клинические испытания
Naruse K. et al. [27]	1998	Гепатоциты свиньи	Лечение животных с ишемической моделью печеночной недостаточности
Flendrig L.M. et al. [62]	1999	Гепатоциты свиньи	Лечение печеночной недостаточности у животных
Iwata H. et al. [81]	1999	Гепатоциты свиньи	Исследованы физико-химические аспекты работы биореактора
Migashi H. et al. [82]	1999	Гепатоциты крысы	Исследованы метаболические функции гепатоцитов
Компания Circe Biomedical [75]	1999	Криоконсервированные первичные свиные гепатоциты	Начальные этапы клинических испытаний
Соловьев В.В., Акатов В.С., Лежнев Э.И. [84]	2000	Гепатоциты человека	Проходит клинические испытания
Рябинин В.Е. с соавт. [14]	2002	Лиофилизированный цитозоль с митохондриальной и микросомальной фракциями печени	Модельные эксперименты и исследования на животных
Компания Vital Therapies, Inc. [9]	1998–2007	Иммортилизованная линия гепатоцитов человека	Прошла клинические испытания

сы [79]. Такой биореактор, засеянный человеческими гепатоцитами, был допущен к клиническим испытаниям, однако информации об их успешности нет.

К. Naguse с соавт. в 1998 г. [27] описано устройство с использованием первичных свиных гепатоцитов, иммобилизованных на полиэфирном матриксе. Особенности системы являлись предварительное формирование цилиндрической оболочки матрикса и последующее направление потока крови, находящегося вне оболочки, к внутренней ее части в радиальном реакторе. Для достаточного снабжения гепатоцитов кислородом проводили внешнюю оксигенацию. Использование этого метода позволило увеличить выживаемость свиней с ишемической моделью печеночной недостаточности.

В 1999 г. L.M. Flendrig с соавт. [62] предложили другой тип биореактора, в котором свиные гепатоциты культивировались прикрепленными к спиральным волокнам из полиэфирных нетканых материалов, образующим трехмерную сеть. Вся конструкция была упакована в цилиндрический акриловый корпус. Внутри происходила непосредственная перфузия плазмы, текущей вдоль биореактора. Между соседними слоями волокон были вставлены микропористые мембраны для насыщения кислородом и удаления углекислого газа. При этом было зафиксировано образование гепатоцитами агрегатов, что приближало конструкцию биореактора к естественному строению печеночной единицы.

S. Naka с соавт. в 1999 г. [80] разработали систему, использующую первичную культуру свиных гепатоцитов. В данной модели биореактора контакт гепатоцитов с плазмой осуществлялся через полисульфоновые мембраны. При этом первичные свиные гепатоциты в коллагеновом геле были размещены в просвете капилляров, а кровь перфузировалась через экстралюминальное пространство. Таким образом был организован дополнительный поток веществ и обеспечивались необходимые условия для функционирования гепатоцитов. Поскольку коллаген способен к полимеризации, происходило полимеризационное сокращение количества геля и образование в просвете волокон канала, через который циркулировала питательная среда. Этот биореактор был успешно испытан на животных, в настоящее время ожидаются результаты клинических испытаний.

H. Iwata с соавт. также в 1999 г. [81] создали сходную систему и опубликовали результаты исследований, в которых описали кинетику метаболических реакций гепатоцитов, культивируемых на картридже с экстралюминальным пространством.

H. Migashi с соавт. в том же 1999 г. [82] использовали в своей работе культуру гепатоцитов, прикрепленных к матриксу из поливинилформальдегидной смолы. Материал кубической формы с прикрепленными к нему первичными гепатоцитами крыс размещали в специальной колонке. Исследования показали достаточно длительное (до 12 ч) сохранение метаболических функций гепатоцитов.

Компания Circe Biomedical [75] использовала в своих аппаратах Hepat Assist криоконсервированные первич-

ные свиные гепатоциты, прикрепленные к покрытым коллагеном декстрановым частицам. Есть данные о начальных этапах клинических испытаний этих аппаратов в 2000 г. (опыт лечения 39 больных с печеночной недостаточностью), но об успешном их прохождении не сообщалось [83].

Группой российских ученых в 2000 г. [84] был запатентован аппарат «биоискусственная печень», который представляет собой биореактор колоночного типа. Рабочее тело биореактора состоит из емкости, заполненной частицами нейтрального носителя и гепатоцитами. В качестве частиц носителя используются стеклянные шарики диаметром 1–3 мм. Они создают объемную матрицу, в которой в пустотах между частицами формируются и удерживаются многоклеточные агрегаты гепатоцитов. Биологическая жидкость перфузируется через колонку сверху вниз и непосредственно омывает клеточные агрегаты, распределенные с помощью носителя по всему объему реактора. В настоящий момент реактор проходит клинические испытания.

Интересна система «биоискусственная печень», разработанная в Челябинске под руководством профессора В.Е. Рябинына, с которой проведены модельные эксперименты и исследования на животных [14]. Принцип работы биореактора заключается в использовании полупроницаемой мембраны. С помощью этой методики осуществляется контакт крови пациента с контуром, в котором находится специальный биологический раствор, разработанный В.Е. Рябининым, — лиофилизированный цитозоль с микросомальной и митохондриальной фракцией гепатоцитов. Следует подчеркнуть, что система использует не гепатоциты, а только их органеллы, существенно отличаясь от биореакторов с клеточными компонентами.

В настоящее время применяемым на практике устройством, которое успешно прошло клинические испытания, является ELAD (Vital Therapies, Inc., США). В его основе лежит использование иммортализованной линии гепатоцитов человека, которые прикрепляются и растут в экстракапиллярном пространстве диализатора с полупроницаемой мембраной из полисульфона [9]. Кровь больного поступает в устройство ELAD через катетер из яремной вены. В устройстве происходит отделение плазмы (жидкой части крови), которая направляется в диализаторы, содержащие около 440 г живых клеток. Устройство разработано с целью обеспечения непрерывной поддержки функции печени сроком до 30 дней у пациентов с острой или молниеносной формой печеночной недостаточности. Система призвана обеспечить сохранение функций печени, поддерживать жизнь пациентов и защитить нервную систему от токсинов до момента трансплантации.

Заключение. С момента появления первых биореакторов прошло более двух десятилетий. За это время найдено много технических решений, усовершенствованы подходы к культивированию клеток. Созданы системы, прошедшие клинические испытания, и есть система, применяемая в медицине. Но нерешенными остаются многие проблемы в области клеточных технологий, связанные с увеличением долговечности

культур гепатоцитов. Для повышения срока сохранения функциональности гепатоцитов ведутся исследования по созданию биоактивных матриц, разрабатываются новые инженерные решения в области систем снабжения клеток кислородом и необходимыми веществами. В перспективе есть вероятность, что аппарат «биоискусственная печень» будет применяться при лечении хронических заболеваний печени подобно аппарату «искусственная почка», используемому при лечении почечных заболеваний.

Финансирование исследования. Работа выполнена при поддержке проекта Российского фонда фундаментальных исследований №13-04-97141 «Исследование функциональной активности клеточных популяций гепатоцитов для создания биореактора «Искусственная печень».

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература

1. Гарбузенко Д.В., Попов Г.К. Механизмы регуляции регенерации печени. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 2001; 11(1): 21–25.
2. Sussman N.L., Kelly J.H. The artificial liver. *Sci Am Sci Med* 1995; 2(3): 68–77.
3. Alvarez F.A., Ardiles V., Sanchez Claria R., et al. Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS): tips and tricks. *J Gastrointest Surg* 2013; 17(4): 814–821, <http://dx.doi.org/10.1007/s11605-012-2092-2>.
4. Torres O.J., Moraes-Junior J.M., Lima N.C., Moraes A.M. Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS): a new approach in liver resections. *Arq Bras Cir Dig* 2012; 25(4): 290–292, <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-67202012000400015>.
5. Stockmann H.B. Prospects for the temporary treatment of acute liver failure. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 195–203.
6. Sauer I.M., Zeilinger K., Pless G., et al. Extracorporeal liver support based on primary human liver cells and albumin dialysis — treatment of a patient with primary graft non-function. *J Hepatol* 2003; 39: 649–653.
7. Rifai K., Ernst T., Kretschmer U., et al. Prometheus — a new extracorporeal system for the treatment of liver failure. *J Hepatol* 2003; 39: 984–990, [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278\(03\)00468-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278(03)00468-9).
8. Jalan R., Williams R. The role of the Molecular Adsorbents Recirculating System (MARS) in the management of liver failure. *Perfusion* 2004; 19: 43–48, <http://dx.doi.org/10.1191/0267659104pf716oa>.
9. Ellis F.J., Hughes R.D., Wendon J.A., et al. Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996; 24: 1446–1451.
10. Gubernatis G., Pichlmayr R., Kemnitz J., Gratz K. Auxiliary partial orthotopic liver transplantation (APOLT) for fulminant hepatic failure: first successful case report. *World J Surg* 1991; 15(5): 660–665, <http://dx.doi.org/10.1007/BF01789221>.
11. Azoulay D., Samuel D., Ichai P., et al. Auxiliary partial orthotopic versus standard orthotopic whole liver transplantation for acute liver failure: a reappraisal from a single center by a case-control study. *Ann Surg* 2001; 234(6): 723–731.
12. Ringe K.L., Galanski M., Ringe B. From abernethy to APOLT. *Liver Transpl* 2008; 14(7): 1067–1068, <http://dx.doi.org/10.1002/lt.21457>.
13. Kasahara M., Takada Y., Egawa H., et al. Auxiliary partial orthotopic living donor liver transplantation: Kyoto Univ. experience. *Am J Transplant* 2005; 5(3): 558–566, <http://dx.doi.org/10.1002/lt.20692>.
14. Рябинин В.Е., Грбовой С.И., Ткачев С.И., Кравчук И.Е. Исследование свойств цитозоля печени и эффективности способа его использования в аппарате «биологическая вспомогательная печень». *Вестник РАМН* 2002; 3: 21–24.
15. Рябинин В.Е., Супрун В.И., Ткачев С.И. Использование искусственных систем жизнеобеспечения и клеточных технологий при лечении заболеваний печени. Челябинск: Юж.-Урал. науч. центр Рос. акад. мед. наук; 2007; 148 с.
16. Pless G. Bioartificial liver support systems. *Methods Mol Biol* 2010; 640: 511–523, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-688-7_28.
17. Saich R. Toxic molecules in liver failure plasma [dissertation]. London (UK): Univ. of London; 2010.
18. Catapano G., Di Lorenzo M.C., Della Volpe C., et al. Polymeric membranes for hybrid liver support devices: the effect of membrane surface wettability on hepatocyte viability and functions. *J Biomater Sci Polymer Ed* 1996; 7(11): 1017–1027.
19. Gerlach J. Development of a hybrid liver support system: a review. *Int J Artif Organs* 1996; 19(11): 645–654.
20. Pan X.-P., Li L.-J. Advances in cell sources of hepatocytes for bioartificial liver. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11(6): 594–605, [http://dx.doi.org/10.1016/S1499-3872\(12\)60230-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1499-3872(12)60230-6).
21. LeCluyse E.L., Alexandre E., Hamilton G.A. Isolation and culture of primary hepatocytes from resected human liver tissue. *Methods Mol Biol* 2005; 290: 207–229.
22. Рябинин В.Е. Использование методов клеточной и эфферентной терапии при лечении печеночной недостаточности. *Вестник трансплантации искусственных органов* 2002; 1: 42–49.
23. Yokoyama I., Hayakawa A., Hayashi S., et al. Fas antigen expression of hepatocytes and its modification by immunosuppressants. *Dig Dis Sci* 1997; 42(12): 2471–2475.
24. Chen Z., Ding Y., Li G. Configuration of a new bioartificial liver support system and in vitro evaluation of its functions. *Ann Clin Lab Sci* 2005; 35(1): 7–14.
25. Naik S., Trenkler D., Santangini H. Isolation and culture of porcine hepatocytes for artificial liver support. *Cell Transplant* 1996; 5(1): 107–115, [http://dx.doi.org/10.1016/0963-6897\(95\)02003-9](http://dx.doi.org/10.1016/0963-6897(95)02003-9).
26. PHS guideline on infectious disease issues in xenotransplantation. U.S. Food and Drug Administration; 2001. <http://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/xenotransplantation/ucm074727.htm>.
27. Naruse K., Nagashima I., Sakai Y., et al. Efficacy of a bioreactor filled with porcine hepatocytes immobilized on nonwoven fabric for ex vivo direct hemoperfusion treatment of liver failure in pigs. *Artif Organs* 1998; 22(12): 1031–1037.
28. Priesner C., Hesse F., Windgassen D., et al. Liver-specific physiology of immortal, functionally differentiated hepatocytes and of deficient hepatocyte-like variants. *In Vitro Cell Dev Biol* 2004; 40: 318–330, <http://dx.doi.org/10.1290/0404031.1>.
29. Kuge H., Ohashi K., Yokoyama T., et al. Genetic modification of hepatocytes towards hepatocyte transplantation and liver tissue engineering. *Cell Transplant* 2006; 15(1): 1–12.
30. Matsumura T., Takesue M., Westerman K.A., et al. Establishment of an immortalized human-liver endothelial cell line with SV40T and hTERT. *Transplantation* 2004; 77(9): 1357–1365.
31. Sussman N.L., Chong M.G., Koussayer T., et al. Reversal of fulminant hepatic failure using an extracorporeal liver assist device. *Hepatology* 1992; 16: 60–65, <http://dx.doi.org/10.1002/hep.1840160112>.
32. Werner A., Duvar S., Müthing J., et al. Cultivation of immortalized human hepatocytes HepZ on macroporous CultiSpherG microcarriers. *Biotechnol Bioeng* 2000; 68(1): 59–70.
33. Hsieh S., Lin P.-Y., Hsieh C.-W., et al. Probing the adhesion of hepatocellular carcinoma HepG2 and SK-Hep-1 cells. *J Chin Chem Soc* 2012; 59: 929–933.
34. Deurholt T., van Til N.P., Chhatta A.A., et al. Novel immortalized human fetal liver cell line, cBAL111, has the potential to differentiate into functional hepatocytes. *BMC Biotechnol* 2009; 9: 89–104, <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6750-9-89>.
35. Talbot N.C., Caperna T.J., Wells K.D. The PCM-19 cell line as an in vitro model of liver bile ductules: effects of cAMP inducers, biopeptides and pH. *Cells Tissues Organs* 2002; 171(2–3): 99–116, <http://dx.doi.org/10.1159/000063704>.

36. Celton-Morizur S., Desdouets C. Polyploidization of liver cells. *Adv Exp Med Biol* 2010; 676: 123–35.
37. Ярыгин К.Н. Регенерация органов и тканей: иерархическая и стохастическая модели. В кн.: Тезисы докладов всероссийской и международной научной конференции «Стволовые клетки и перспективы их использования в здравоохранении». М; 2007; с. 9–11.
38. Zhang W., Tucker-Kellogg L., Narmada B.C., et al. Cell-delivery therapeutics for liver regeneration. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62: 814–826, <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2010.02.005>.
39. Soto-Gutierrez A., Navarro-Alvarez N., Yagi H., et al. Engineering of an hepatic organoid to develop liver assist devices. *Cell Transplant* 2010; 19: 815–822, <http://dx.doi.org/10.3727/096368910X508933>.
40. Гарбузенко Д.В. Механизмы компенсации структуры и функции печени при ее повреждении и их практическое значение. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 2008; 18(6): 14–21.
41. Gebhardt R. Co-cultivation of liver epithelial cells with hepatocytes. *Methods Mol Biol* 2002; 188: 337–346, <http://dx.doi.org/10.1385/1-59259-185-X:337>.
42. Mohajerani S.A., Nourbakhsh M., Cadili A., et al. Transplant of primary human hepatocytes cocultured with bone marrow stromal cells to SCID Alb-uPA mice. *Cell Medicine* 2010; 1: 81–92.
43. Yang G.J. Experimental study on the co-culture of hepatocytes with bone marrow mesenchymal stem cells in vitro [dissertation]. Nanjing (JP): Nanjing Medical Univ., 2009.
44. Banas A., Teratani T., Yamamoto Y., et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology* 2007; 46: 219–228, <http://dx.doi.org/10.1002/hep.21704>.
45. Jones C.N., Tuleuovaa N., Leea J.Y., et al. Cultivating liver cells on printed arrays of hepatocyte growth factor. *Biomaterials* 2009; 30(22): 3733–3741, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.03.039>.
46. Gerbal-Chaloin S., Duret C., Raulet E., et al. Isolation and culture of adult human liver progenitor cells: in vitro differentiation to hepatocyte-like cells. *Methods in Mol Biol* 2010; 640: 247–260, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-688-7_12.
47. Xiong A., Austin T.W., Lagasse E., et al. Isolation of human fetal liver progenitors and their enhanced proliferation by three-dimensional coculture with endothelial cells. *Tissue Eng* 2008; 14: 995–1006, <http://dx.doi.org/10.1089/tea.2007.0087>.
48. Ji R., Zhang N., You N., et al. The differentiation of MSCs into functional hepatocyte-like cells in a liver biomatrix scaffold and their transplantation into liver-fibrotic mice. *Biomaterials* 2012; 33: 8995–9008, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.08.058>.
49. Hoekstra R., Chamuleau R.A. Recent developments on human cell lines for the bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 2002; 25(3): 182–191.
50. Kazemnejad S. Hepatic tissue engineering using scaffolds: state of the art. *Avicenna J Med Biotech* 2009; 1(3): 135–145.
51. Smith M.D. Techniques for measurement of oxygen consumption rates of hepatocytes during attachment and post attachment. *Int J Artif Organs* 1996; 19: 36–44.
52. Moolman F.S. Oxygen carriers for a novel bio-artificial liver support system [dissertation]. Pretoria (RSA): Univ. of Pretoria; 2003.
53. Donato M.T. Characterization of drug metabolizing activities in pig hepatocytes for use in bioartificial liver devices: comparison with other hepatic cellular models. *J Hepatol* 1999; 31: 542–549.
54. Gharravi A.M., Orazizadeh M., Hashemitabar M., et al. Status of tissue engineering and regenerative medicine in Iran and related advanced tools: Bioreactors and scaffolds. *Biomed Eng* 2012; 5(4): 217–227.
55. Willinger M., Schima H., Schmidt C., et al. Microspheres based detoxification system: in vitro study and mathematical estimation of filter performance. *Int J Artif Organs* 1999; 22: 573–582.
56. Leete D.A. Functional design and fabrication of heterogeneous tissue engineering scaffolds [dissertation]. Philadelphia (PA): Drexel Univ.; 2005.
57. Koebe H.G. Collagen gel immobilization provides a suitable cell matrix for long term human hepatocyte cultures in hybrid reactors. *Int J Artif Organs* 1994; 17: 95–106.
58. Wang S., Nagrath D., Chen P.C., et al. Three-dimensional hepatocyte culture in s-synthetic self-assembling peptide hydrogel. *Tissue Eng* 2008; 14(2): 227–236, <http://dx.doi.org/10.1089/tea.2007.0143>.
59. Park J., Li Y., Berthiaume F., et al. Radial flow hepatocyte bioreactor using stacked microfabricated grooved substrates. *Biotechnol Bioeng* 2008; 99(2): 455–467, <http://dx.doi.org/10.1002/bit.21572>.
60. Shimbara N., Atawa R., Takashina M., et al. Long-term culture of functional hepatocytes on chemically modified collagen gels. *Cytotechnology* 1996; 21(1): 31–43, <http://dx.doi.org/10.1007/BF00364835>.
61. Arca H.C., Senel S. Chitosan based systems for tissue engineering Part II: soft tissues. *FABAD J Pharm Sci* 2008; 33: 211–226.
62. Flendrig L.M., Calise F., Florio E., et al. Significantly improved survival time in pigs with complete liver ischemia treated with a novel bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 1999; 22: 701–709.
63. Catapano G., De Bartolo L., Vico V., Ambrosio L. Morphology and metabolism of hepatocytes cultured in Petri dishes on films and in non-woven fabrics of hyaluronic acid esters. *Biomaterials* 2001; 22: 659–665, [http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00228-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00228-3).
64. Gerlach J.C. Long-term liver cell cultures in bioreactors and possible application for liver support. *Cell Biol Toxicol* 1997; 13: 349–355.
65. Mitzner S.R., Stange J., Klammt S., et al. Extracorporeal detoxification using the molecular adsorbent recirculating system for critically ill patients with liver failure. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 75–82.
66. Naruse K., Sakai Y., Nagashima J., Suzuki M., et al. Development of a new bioartificial liver module filled with porcine hepatocytes immobilized on non-woven fabric. *Int J Artif Organs* 1996; 6: 347–352.
67. Gluck J.-M. Electrospun nanofibrous poly(ϵ -caprolactone) scaffolds for liver tissue engineering [dissertation]. Raleigh (NC): Carolina St. Univ.; 2007.
68. Tsang V.L., Chen A.A., Cho L.M., et al. Fabrication of 3D hepatic tissues by additive photopatterning of cellular hydrogels. *FASEB J* 2007; 21: 790–801, <http://dx.doi.org/10.1096/fj.06-7117.com>.
69. Cho C.H., Park J., Tilles A.W., et al. Layered patterning of hepatocytes in co-culture systems using microfabricated stencils. *BioTechniques* 2010; 48: 47–52, <http://dx.doi.org/10.2144/000113317>.
70. Рябинин В.Е., Ткачев С.И., Гробовой С.И. Использование эфферентных методов терапии и аппарата «биоискусственная печень» при лечении печеночной недостаточности. Вестник трансплантологии и искусственных органов 2002; 36: 92–93.
71. Powers M.J., Griffith L.G. Adhesion-guided in vitro morphogenesis in pure and mixed cell cultures. *Microsc Res Tech* 1998; 43: 379–384, [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19981201\)43:5<379::AID-JEMT4>3.0.CO;2-O](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19981201)43:5<379::AID-JEMT4>3.0.CO;2-O).
72. Takahashi M., Sakurai M., Enosawa S., et al. Double-compartment cell culture apparatus: construction and biochemical evaluation for bioartificial liver support. *Cell Transp* 2006; 15: 945–952.
73. Powers J.M., Domansky K., Kaazempur-Mofrad M.R., et al. A microfabricated array bioreactor for perfused 3D liver culture. *Biotechnol Bioeng* 2002; 78(3): 257–269; <http://dx.doi.org/10.1002/bit.10143>.
74. Lee J.-H., Lee D.-H., Park J.-K., et al. Potentiality of immobilized pig hepatocyte spheroids in bioartificial liver system. *Transplant Proc* 2012; 44(4): 1012–1014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.03.010>.
75. Catapano G., Gerlach J.C. Bioreactors for liver tissue engineering. *Topics in Tissue Engineering* 2007; 3: 2–42.
76. Török É., Vogel C., Lütgehetmann M., et al. Morphological and functional analysis of rat hepatocyte spheroids generated on poly(L-lactic acid) polymer in a pulsative flow bioreactor. *Tissue Eng* 2006; 12: 1881–1890, <http://dx.doi.org/10.1089/ten.2006.12.1881>.
77. Matsumura K.N., Guevara G.R., Huston H., et al. Hybrid bioartificial liver in hepatic failure: preliminary clinical report. *Surgery* 1987; 101: 99–103.
78. Margulis M.S., Erukhimov E.A., Andreiman L.A., Viksna L.M. Temporary organ substitution by hemoperfusion trough suspension

of active donor hepatocytes in a total complex of intensive therapy in patients with acute hepatic insufficiency. *Resuscitation* 1989; 18: 85–94.

79. Poyck P.C., Pless G., Hoekstra R., et al. In vitro comparison of two bioartificial liver systems: MELS Cell module and AMC-BAL. *Int J Artif Organs* 2007; 30(3): 183–191.

80. Naka S., Takeshita K., Yamamoto T., et al. Bioartificial liver support system using porcine hepatocytes entrapped in a three-dimensional hollow fiber module with collagen gel: an evaluation in the swine acute liver failure model. *Artif Organs* 1999; 23: 822–828.

81. Iwata H., Sajiki T., Maeda H., et al. In vitro evaluation of metabolic functions of a bioartificial liver. *ASAIO J* 1999; 45: 299–306, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1525-1594.1999.06323.x>.

82. Migashi H., Ookawa K., Ohshima N., et al. Hepatocyte culture utilizing porous polyvinyl formal resin maintains long-term stable albumin secretion activity. *J Biomaterials Sci Polymer Edition* 1999; 9: 227–237.

83. Пархисенко Ю.А., Алексеев Д.В. Использование экстракорпоральных систем поддержки печени при острой или молниеносной печеночной недостаточности в трансплантологии. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова* 2004; 4: 55–60.

84. Соловьев В.В., Акатов В.С., Лежнев Э.И. Исследование функциональной активности гепатоцитов в тканевых фрагментах в новом биореакторе «биологическая искусственная печень». *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2000; 129(6): 698–700.

References

1. Garbuzenko D.V., Popov G.K. Mekhanizmy regulyatsii regeneratsii pecheni [Regulation mechanisms of liver regeneration]. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii — Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology* 2001; 11(1): 21–25.

2. Sussman N.L., Kelly J.H. The artificial liver. *Sci Am Sci Med* 1995; 2(3): 68–77.

3. Alvarez F.A., Ardiles V., Sanchez Claria R., et al. Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS): tips and tricks. *J Gastrointest Surg* 2013; 17(4): 814–821, <http://dx.doi.org/10.1007/s11605-012-2092-2>.

4. Torres O.J., Moraes-Junior J.M., Lima N.C., Moraes A.M. Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS): a new approach in liver resections. *Arq Bras Cir Dig* 2012; 25(4): 290–292, <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-67202012000400015>.

5. Stockmann H.B. Prospects for the temporary treatment of acute liver failure. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 195–203.

6. Sauer I.M., Zeilinger K., Pless G., et al. Extracorporeal liver support based on primary human liver cells and albumin dialysis — treatment of a patient with primary graft non-function. *J Hepatol* 2003; 39: 649–653.

7. Rifai K., Ernst T., Kretschmer U., et al. Prometheus — a new extracorporeal system for the treatment of liver failure. *J Hepatol* 2003; 39: 984–990, [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278\(03\)00468-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278(03)00468-9).

8. Jalan R., Williams R. The role of the Molecular Adsorbents Recirculating System (MARS) in the management of liver failure. *Perfusion* 2004; 19: 43–48, <http://dx.doi.org/10.1191/0267659104pf716oa>.

9. Ellis F.J., Hughes R.D., Wendon J.A., et al. Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996; 24: 1446–1451.

10. Gubernatis G., Pichlmayr R., Kemnitz J., Gratz K. Auxiliary partial orthotopic liver transplantation (APOLT) for fulminant hepatic failure: first successful case report. *World J Surg* 1991; 15(5): 660–665, <http://dx.doi.org/10.1007/BF01789221>.

11. Azoulay D., Samuel D., Ichaï P., et al. Auxiliary partial orthotopic versus standard orthotopic whole liver transplantation for acute liver failure: a reappraisal from a single center by a case-control study. *Ann Surg* 2001; 234(6): 723–731.

12. Ringe K.I., Galanski M., Ringe B. From abernethy to APOLT. *Liver Transpl* 2008; 14(7): 1067–1068, <http://dx.doi.org/10.1002/lt.21457>.

13. Kasahara M., Takada Y., Egawa H., et al. Auxiliary partial orthotopic living donor liver transplantation: Kyoto Univ. experience. *Am J Transplant* 2005; 5(3): 558–566, <http://dx.doi.org/10.1002/lt.20692>.

14. Ryabinin V.E., Grobovoy S.I., Tkachev S.I., Kravchuk I.E. Issledovanie svoystv tsitozolya pecheni i effektivnosti sposoba ego ispol'zovaniya v apparate "biologicheskaya vspomogatel'naya pechen'" [The study of hepatic cytosolic properties and the efficiency of its use in biological liver assist device]. *Vestnik RAMN — Herald of RAMS* 2002; 3: 21–24.

15. Ryabinin V.E., Suprun V.I., Tkachev S.I. Ispol'zovanie iskusstvennykh sistem zhizneobespecheniya i kletochnykh tekhnologiy pri lechenii zabolevaniy pecheni [Application of artificial life support systems and cellular technologies in hepatotherapy]. *Chelyabinsk: Yuzh.-Ural. nauch. tsentr Ros. akad. med. nauk*; 2007; 148 c.

16. Pless G. Bioartificial liver support systems. *Methods Mol Biol* 2010; 640: 511–523, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-688-7_28.

17. Saich R. *Toxic molecules in liver failure plasma* [dissertation]. London (UK): Univ. of London; 2010.

18. Catapano G., Di Lorenzo M.C., Della Volpe C., et al. Polymeric membranes for hybrid liver support devices: the effect of membrane surface wettability on hepatocyte viability and functions. *J Biomater Sci Polymer Ed* 1996; 7(11): 1017–1027.

19. Gerlach J. Development of a hybrid liver support system: a review. *Int J Artif Organs* 1996; 19(11): 645–654.

20. Pan X.-P., Li L.-J. Advances in cell sources of hepatocytes for bioartificial liver. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11(6): 594–605, [http://dx.doi.org/10.1016/S1499-3872\(12\)60230-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1499-3872(12)60230-6).

21. LeCluyse E.L., Alexandre E., Hamilton G.A. Isolation and culture of primary hepatocytes from resected human liver tissue. *Methods Mol Biol* 2005; 290: 207–229.

22. Ryabinin V.E. Ispol'zovanie metodov kletochnoy i efferentnoy terapii pri lechenii pechenochnoy nedostatochnosti [The use of cellular and efferent methods for hepatic failure treatment]. *Vestnik transplantatsii iskusstvennykh organov — Vestnik of Artificial Organ Transplantation* 2002; 1: 42–49.

23. Yokoyama I., Hayakawa A., Hayashi S., et al. Fas antigen expression of hepatocytes and its modification by immunosuppressants. *Dig Dis Sci* 1997; 42(12): 2471–2475.

24. Chen Z., Ding Y., Li G. Configuration of a new bioartificial liver support system and in vitro evaluation of its functions. *Ann Clin Lab Sci* 2005; 35(1): 7–14.

25. Naik S., Trenkler D., Santangini H. Isolation and culture of porcine hepatocytes for artificial liver support. *Cell Transplant* 1996; 5(1): 107–115, [http://dx.doi.org/10.1016/0963-6897\(95\)02003-9](http://dx.doi.org/10.1016/0963-6897(95)02003-9).

26. *PHS guideline on infectious disease issues in xenotransplantation*. U.S. Food and Drug Administration; 2001. <http://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/xenotransplantation/ucm074727.htm>.

27. Naruse K., Nagashima I., Sakai Y., et al. Efficacy of a bioreactor filled with porcine hepatocytes immobilized on nonwoven fabric for ex vivo direct hemoperfusion treatment of liver failure in pigs. *Artif Organs* 1998; 22(12): 1031–1037.

28. Priesner C., Hesse F., Windgassen D., et al. Liver-specific physiology of immortal, functionally differentiated hepatocytes and of deficient hepatocyte-like variants. *In Vitro Cell Dev Biol* 2004; 40: 318–330, <http://dx.doi.org/10.1290/0404031.1>.

29. Kuge H., Ohashi K., Yokoyama T., et al. Genetic modification of hepatocytes towards hepatocyte transplantation and liver tissue engineering. *Cell Transplant* 2006; 15(1): 1–12.

30. Matsumura T., Takesue M., Westerman K.A., et al. Establishment of an immortalized human-liver endothelial cell line with SV40T and hTERT. *Transplantation* 2004; 77(9): 1357–1365.

31. Sussman N.L., Chong M.G., Koussayer T., et al. Reversal of fulminant hepatic failure using an extracorporeal liver assist device. *Hepatology* 1992; 16: 60–65, <http://dx.doi.org/10.1002/hep.1840160112>.

32. Werner A., Duvar S., Müthing J., et al. Cultivation of immortalized human hepatocytes HepZ on macroporous CultiSpherG microcarriers. *Biotechnol Bioeng* 2000; 68(1): 59–70.

33. Hsieh S., Lin P.-Y., Hsieh C.-W., et al. Probing the adhesion of hepatocellular carcinoma HepG2 and SK-Hep-1 cells. *J Chin Chem Soc* 2012; 59: 929–933.
34. Deurholt T., van Til N.P., Chhatta A.A., et al. Novel immortalized human fetal liver cell line, cBAL111, has the potential to differentiate into functional hepatocytes. *BMC Biotechnol* 2009; 9: 89–104, <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6750-9-89>.
35. Talbot N.C., Caperna T.J., Wells K.D. The PCM-19 cell line as an in vitro model of liver bile ductules: effects of cAMP inducers, biopeptides and pH. *Cells Tissues Organs* 2002; 171(2–3): 99–116, <http://dx.doi.org/10.1159/000063704>.
36. Celton-Morizur S., Desdouets C. Polyploidization of liver cells. *Adv Exp Med Biol* 2010; 676: 123–35.
37. Yarygin K.N. Regeneratsiya organov i tkaney: ierarkhicheskaya i stokhasticheskaya modeli. V kn.: *Tezisy dokladov vserossiyskoy i mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii "Stvolovye kletki i perspektiva ikh ispol'zovaniya v zdravookhraneni"* [Organ and tissue regeneration: hierarchical and stochastic models. In: Abstracts of Russian and international scientific conference "Stem cells and prospects for their application in public health service"]. Moscow; 2007; p. 9–11.
38. Zhang W., Tucker-Kellogg L., Narmada B.C., et al. Cell-delivery therapeutics for liver regeneration. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62: 814–826, <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2010.02.005>.
39. Soto-Gutierrez A., Navarro-Alvarez N., Yagi H., et al. Engineering of a hepatic organoid to develop liver assist devices. *Cell Transplant* 2010; 19: 815–822, <http://dx.doi.org/10.3727/096368910X508933>.
40. Garbuzenko D.V. Mekhanizmy kompensatsii struktury i funktsii pecheni pri ee povrezhdenii i ikh prakticheskoe znachenie [Hepatic structure and function compensation mechanisms in liver damage and their practical importance]. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii — Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology* 2008; 18(6): 14–21.
41. Gebhardt R. Co-cultivation of liver epithelial cells with hepatocytes. *Methods Mol Biol* 2002; 188: 337–346, <http://dx.doi.org/10.1385/1-59259-185-X:337>.
42. Mohajerani S.A., Nourbakhsh M., Cadili A., et al. Transplant of primary human hepatocytes cocultured with bone marrow stromal cells to SCID Alb-uPA mice. *Cell Medicine* 2010; 1: 81–92.
43. Yang G.J. *Experimental study on the co-culture of hepatocytes with bone marrow mesenchymal stem cells in vitro* [dissertation]. Nanjing (JP): Nanjing Medical Univ., 2009.
44. Banas A., Teratani T., Yamamoto Y., et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology* 2007; 46: 219–228, <http://dx.doi.org/10.1002/hep.21704>.
45. Jones C.N., Tuleuova N., Leea J.Y., et al. Cultivating liver cells on printed arrays of hepatocyte growth factor. *Biomaterials* 2009; 30(22): 3733–3741, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.03.039>.
46. Gerbal-Chaloin S., Duret C., Raulet E., et al. Isolation and culture of adult human liver progenitor cells: in vitro differentiation to hepatocyte-like cells. *Methods in Mol Biol* 2010; 640: 247–260, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-688-7_12.
47. Xiong A., Austin T.W., Lagasse E., et al. Isolation of human fetal liver progenitors and their enhanced proliferation by three-dimensional coculture with endothelial cells. *Tissue Eng* 2008; 14: 995–1006, <http://dx.doi.org/10.1089/tea.2007.0087>.
48. Ji R., Zhang N., You N., et al. The differentiation of MSCs into functional hepatocyte-like cells in a liver biomatrix scaffold and their transplantation into liver-fibrotic mice. *Biomaterials* 2012; 33: 8995–9008, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.08.058>.
49. Hoekstra R., Chamuleau R.A. Recent developments on human cell lines for the bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 2002; 25(3): 182–191.
50. Kazemnejad S. Hepatic tissue engineering using scaffolds: state of the art. *Avicenna J Med Biotech* 2009; 1(3): 135–145.
51. Smith M.D. Techniques for measurement of oxygen consumption rates of hepatocytes during attachment and post attachment. *Int J Artif Organs* 1996; 19: 36–44.
52. Moolman F.S. *Oxygen carriers for a novel bio-artificial liver support system* [dissertation]. Pretoria (RSA): Univ. of Pretoria; 2003.
53. Donato M.T. Characterization of drug metabolizing activities in pig hepatocytes for use in bioartificial liver devices: comparison with other hepatic cellular models. *J Hepatol* 1999; 31: 542–549.
54. Gharravi A.M., Orazizadeh M., Hashemitabar M., et al. Status of tissue engineering and regenerative medicine in Iran and related advanced tools: Bioreactors and scaffolds. *Biomed Eng* 2012; 5(4): 217–227.
55. Willinger M., Schima H., Schmidt C., et al. Microspheres based detoxification system: in vitro study and mathematical estimation of filter performance. *Int J Artif Organs* 1999; 22: 573–582.
56. Leete D.A. *Functional design and fabrication of heterogeneous tissue engineering scaffolds* [dissertation]. Philadelphia (PA): Drexel Univ.; 2005.
57. Koebe H.G. Collagen gel immobilization provides a suitable cell matrix for long term human hepatocyte cultures in hybrid reactors. *Int J Artif Organs* 1994; 17: 95–106.
58. Wang S., Nagrath D., Chen P.C., et al. Three-dimensional primary hepatocyte culture in synthetic self-assembling peptide hydrogel. *Tissue Eng* 2008; 14(2): 227–236, <http://dx.doi.org/10.1089/tea.2007.0143>.
59. Park J., Li Y., Berthiaume F., et al. Radial flow hepatocyte bioreactor using stacked microfabricated grooved substrates. *Biotechnol Bioeng* 2008; 99(2): 455–467, <http://dx.doi.org/10.1002/bit.21572>.
60. Shimbara N., Atawa R., Takashina M., et al. Long-term culture of functional hepatocytes on chemically modified collagen gels. *Cytotechnology* 1996; 21(1): 31–43, <http://dx.doi.org/10.1007/BF00364835>.
61. Arca H.C., Senel S. Chitosan based systems for tissue engineering Part II: soft tissues. *FABAD J Pharm Sci* 2008; 33: 211–226.
62. Flendrig L.M., Calise F., Florio E., et al. Significantly improved survival time in pigs with complete liver ischemia treated with a novel bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 1999; 22: 701–709.
63. Catapano G., De Bartolo L., Vico V., Ambrosio L. Morphology and metabolism of hepatocytes cultured in Petri dishes on films and in non-woven fabrics of hyaluronic acid esters. *Biomaterials* 2001; 22: 659–665, [http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00228-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00228-3).
64. Gerlach J.C. Long-term liver cell cultures in bioreactors and possible application for liver support. *Cell Biol Toxicol* 1997; 13: 349–355.
65. Mitzner S.R., Stange J., Klammt S., et al. Extracorporeal detoxification using the molecular adsorbent recirculating system for critically ill patients with liver failure. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 75–82.
66. Naruse K., Sakai Y., Nagashima J., Suzuki M., et al. Development of a new bioartificial liver module filled with porcine hepatocytes immobilized on non-woven fabric. *Int J Artif Organs* 1996; 6: 347–352.
67. Gluck J.-M. *Electrospun nanofibrous poly(ε-caprolactone) scaffolds for liver tissue engineering* [dissertation]. Raleigh (NC): Carolina St. Univ.; 2007.
68. Tsang V.L., Chen A.A., Cho L.M., et al. Fabrication of 3D hepatic tissues by additive photopatterning of cellular hydrogels. *FASEB J* 2007; 21: 790–801, <http://dx.doi.org/10.1096/fj.06-7117com>.
69. Cho C.H., Park J., Tilles A.W., et al. Layered patterning of hepatocytes in co-culture systems using microfabricated stencils. *BioTechniques* 2010; 48: 47–52, <http://dx.doi.org/10.2144/000113317>.
70. Ryabinin V.E., Tkachev S.I., Grobovoy S.I. Ispol'zovanie efferentnykh metodov terapii i apparata «bioiskusstvennaya pechen'» pri lechenii pechenochnoy nedostatochnosti [The study of hepatic cytosolic properties and the efficiency of its use in biological liver assist device]. *Vestnik RAMN — Herald of RAMS* 2002; 36: 92–93.
71. Powers M.J., Griffith L.G. Adhesion-guided in vitro morphogenesis in pure and mixed cell cultures. *Microsc Res Tech* 1998; 43: 379–384, [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19981201\)43:5<379::AID-JEMT4>3.0.CO;2-O](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19981201)43:5<379::AID-JEMT4>3.0.CO;2-O).
72. Takahashi M., Sakurai M., Enosawa S., et al. Double-compartment cell culture apparatus: construction and biochemical evaluation for bioartificial liver support. *Cell Transp* 2006; 15: 945–952.

73. Powers J.M., Domansky K., Kaazempur-Mofrad M.R., et al. A microfabricated array bioreactor for perfused 3D liver culture. *Biotechnol Bioeng* 2002; 78(3): 257–269; <http://dx.doi.org/10.1002/bit.10143>.
74. Lee J.-H., Lee D.-H., Park J.-K., et al. Potentiality of immobilized pig hepatocyte spheroids in bioartificial liver system. *Transplant Proc* 2012; 44(4): 1012–1014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.03.010>.
75. Catapano G., Gerlach J.C. Bioreactors for liver tissue engineering. *Topics in Tissue Engineering* 2007; 3: 2–42.
76. Török É., Vogel C., Lütgehetmann M., et al. Morphological and functional analysis of rat hepatocyte spheroids generated on poly(l-lactic acid) polymer in a pulsative flow bioreactor. *Tissue Eng* 2006; 12: 1881–1890, <http://dx.doi.org/10.1089/ten.2006.12.1881>.
77. Matsumura K.N., Guevara G.R., Huston H., et al. Hybrid bioartificial liver in hepatic failure: preliminary clinical report. *Surgery* 1987; 101: 99–103.
78. Margulis M.S., Erukhimov E.A., Andreiman L.A., Viksna L.M. Temporary organ substitution by hemoperfusion through suspension of active donor hepatocytes in a total complex of intensive therapy in patients with acute hepatic insufficiency. *Resuscitation* 1989; 18: 85–94.
79. Poyck P.C., Pless G., Hoekstra R., et al. In vitro comparison of two bioartificial liver systems: MELS Cell module and AMC-BAL. *Int J of Artificial Organs* 2007; 30(3): 183–191.
80. Naka S., Takeshita K., Yamamoto T., et al. Bioartificial liver support system using porcine hepatocytes entrapped in a three-dimensional hollow fiber module with collagen gel: an evaluation in the swine acute liver failure model. *Artif Organs* 1999; 23: 822–828.
81. Iwata H., Sajiki T., Maeda H., et al. In vitro evaluation of metabolic functions of a bioartificial liver. *ASAIO J* 1999; 45: 299–306, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1525-1594.1999.06323.x>.
82. Migashi H., Ookawa K., Ohshima N. et al. Hepatocyte culture utilizing porous polyvinyl formal resin maintains long-term stable albumin secretion activity. *J Biomaterials Sci Polymer Edition* 1999; 9: 227–237.
83. Parkhisenko Yu.A., Alekseev D.V. Ispol'zovanie ekstrakorporal'nykh sistem podderzhki pecheni pri ostroy ili molnienosnoy pechenochnoy nedostatochnosti v transplantologii [The use of extracorporeal liver support system in acute or fulminant hepatic failure in transplantology]. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova — Surgery. Journal named after N.I. Pirogov* 2004; 4: 55–60.
84. Solov'ev V.V., Akatov V.S., Lezhnev E.I. Issledovanie funktsional'noy aktivnosti gepatotsitov v tkanevykh fragmentakh v novom bioreaktore «biologicheskaya iskusstvennaya pechen'» [The study of hepatocyte functional activity in tissue fragments in a novel bioreactor "biological artificial liver"]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny — Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2000; 129(6): 698–700.