



ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

1-е место в конкурсе работ по гепатологии за 2012 г.

Бурганова Г.Р.

ГБОУ ДПО КГМА Минздравсоцразвития России

Бурганова Гюзель Рустамовна

E-mail: guzel.burganova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цирроз печени — проблема, требующая новых подходов к лечению, поскольку медикаментозная терапия является недостаточно эффективной. Наиболее перспективными могут оказаться новые методы лечения в области регенеративной медицины и, в частности, использование стволовых клеток (СК). Аутологичные гемопоэтические СК вводили в чревный ствол больным алкогольным циррозом печени. Биоптаты печени окрашивали иммуногистохимически с антителами против CD34, α -гладкомышечного актина (α -ГМА) и Bcl-2. По результатам исследования, установлена перспективность данного метода лечения для подавления фиброгенеза в печени и показана высокая информативность иммуногистохимических методов в оценке эффективности трансплантации.

Ключевые слова: алкогольный цирроз печени, гемопоэтические стволовые клетки, регенерация, синусоиды, миофибробласты.

SUMMARY

Liver cirrhosis is a problem that requires new therapeutical approaches because the existing treatment is not effective enough. The most promising at present may be new treatments in the field of regenerative medicine and in particular the use stem cells. Autologous hematopoietic stem cells were injected into the celiac trunk of patients with alcoholic cirrhosis. Liver biopsy specimens were stained immunohistochemically with antibodies against CD 34, alpha-smooth-muscle actin (α -SMA) and Bcl-2. The results showed that this approach is effective in suppression of fibrogenesis in liver and immunohistochemical methods are highly informative in assessing the effectiveness of stem cells transplantation.

Keywords: alcoholic liver cirrhosis, hematopoietic stem cells, regeneration, sinusoids, myofibroblasts.

ВВЕДЕНИЕ

Алкогольная болезнь печени объединяет различные нарушения структуры и функциональной способности органа, вызванные длительным систематическим употреблением алкогольных напитков. Это заболевание очень широко распространено в популяции и имеет большое клинико-социальное значение вследствие значительного числа трудопотерь, инвалидизации больных, а также развития цирроза печени. Повышение частоты развития алкогольных циррозов закономерно связано с уровнем потребления алкоголя населением страны.

Во всем мире менее половины всего взрослого населения (приблизительно 2 миллиарда человек) употребляют алкоголь [1]. От последствий употребления алкоголя ежегодно умирают 2,5 миллиона человек, значительную долю из которых составляет молодежь [2]. Воздействие потребления алкоголя имеет значительные индивидуальные различия. Не у каждого человека, злоупотребляющего алкоголем, возникает цирроз печени. Скорость процессов метаболизма алкоголя у различных людей может отличаться в 3–4 раза

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Протокол исследования был одобрен Ученым Советом Казанского государственного медицинского университета и Этическим комитетом Министерства Здравоохранения Республики Татарстан. У каждого пациента до начала исследования было получено добровольное информированное согласие на проведение исследования. Пациенты проходили лечение и находились под наблюдением в гастроэнтерологическом отделении Республиканской клинической больницы (РКБ).

В настоящее время в клиническом исследовании находятся 12 пациентов в возрасте от 34 до 67 лет, 10 мужчин и 2 женщины.

Критерии включения пациентов в исследование:

- пациенты в возрасте от 19 до 65 лет, ознакомившиеся с информацией об исследовании и подписавшие добровольное информированное согласие;
- цирроз печени алкогольной этиологии, класс А или В по Чайлд-Пью.

Критерии исключения:

- тяжелая сопутствующая патология;
- прием алкоголя не меньше чем за 6 месяцев до трансплантации стволовых клеток.

До начала исследования пациентам проводилось полное обследование, включающее общий анализ крови и мочи, коагулограмму, функциональные пробы печени, иммунограмму, определение вирусных маркеров, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, фиброэзофагогастродуоденоскопию, электрокардиографию, рентгенографию органов грудной полости и биопсию печени.

После этого в течение пяти дней пациентам производили подкожные инъекции рекомбинантного препарата гранулоцитарного колониестимулирующего фактора G-CSF (нейпоген) в дозе 480 мкг под ежедневным контролем общего анализа крови. На пятый день стимуляции проводили процедуру лейкафереза на клеточном сортере MSC+ (Haemonetics, USA), в результате чего получали конечный продукт — лейкоцитарную массу, обогащенную клетками-предшественниками гемопоэза. Часть объема полученного продукта использовали для подсчета общего числа лейкоцитов и CD34⁺ клеток методом проточной цитометрии на базе лаборатории РКБ МЗ РТ. Анализ выделенных клеток показал, что среднее содержание ядросодержащих моноклеаров составило $3,25 \times 10^7$ в 1 мл. 40 мл клеточного концентрата в течение трех часов после выделения вводили в чревной ствол пациента (рис. 1 на цветной вклейке). Введение клеток в чревной ствол прошло без осложнений. Повторные

биопсии печени проводили через 3 и 12 мес. после трансплантации.

Биоптаты печени фиксировали в 10% нейтральном формалине, заливали в парафин по стандартной методике**, окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксином и иммуногистохимически [28] с помощью системы визуализации Novolink с коммерческими моноклональными антителами против:

1. CD34 — маркера эндотелиальных и кровеносных стволовых клеток (клон QVEnd/10, Novocastra, UK, разведение 1:75);
2. α -SMA — альфа-гладкомышечного актина, маркера миофибробластов (клон 1A4, Dako, Denmark, разведение 1:100);
3. Bcl-2 — антиапоптотического белка, одного из маркеров стволовых и прогениторных клеток (клон 124, Dako, Denmark, разведение 1:10).

Синусоиды печени являются уникальными по своему строению и функции кровеносными сосудами. Уникальность эта определяется тем, что эндотелий синусоидов не имеет базальной мембраны, обязательно присутствующей во всех других капиллярах, и не экспрессирует на своей поверхности маркер эндотелия — гликопротеин CD34. Между эндотелиальной выстилкой и гепатоцитами имеется щель — пространство Диссе. В этом пространстве откладывается коллаген при развитии перисинусоидального фиброза, формируется подобие базальной мембраны и нарушается обмен веществ между кровью и гепатоцитами, то есть происходит трансформация синусоидов печени в капилляры [29–31]. Этот процесс получил название «капилляризация» синусоидов. Изменение фенотипа эндотелиальных клеток приводит к появлению на их поверхности рецептора к CD34, и, следовательно, позволяет нам судить о нарушениях гемодинамики в печени на микроструктурном уровне.

α -ГМА — это сократительный белок гладкомышечных клеток, перицитов, миоэпителиальных клеток и миофибробластов. В здоровой печени этот белок находится в гладкомышечных клетках сосудов печени. При хроническом повреждении печени звездчатые клетки и портальные фибробласты последовательно дифференцируются/трансдифференцируются из покоящихся клеток в активированные, а затем в миофибробласты [32]. α -ГМА является маркером миофибробластов, которые активно синтезируют макромолекулы межклеточного матрикса,

* CD34 — наиболее известный и надежный маркер гемопоэтических стволовых клеток.

** Данный раздел работы проводился на базе патологоанатомического отделения РКБ.

в том числе коллагены, что приводит к развитию и прогрессированию фиброза в печени.

Bcl-2 — антиапоптотический белок, один из маркеров стволовых и прогениторных клеток. Экспрессия Bcl-2 рассматривается также в качестве одного из признаков опухолевой трансформации клеток. Выбор данного маркера связан с тем, что во многих случаях хронического поражения печени апоптоз является значимым механизмом гибели клеток. С другой стороны, зачастую в исходе такого заболевания развивается первичный рак печени. Кроме того, применение клеточных технологий, связанных со стволовыми клетками, нередко рассматривают с позиции риска развития опухоли в результате трансплантации.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Функциональные пробы печени, которые являются наиболее распространенным методом оценки состояния органа, не всегда позволяют определить степень и характер повреждения паренхимы. Современный подход к диагностике заболеваний печени предусматривает необходимость морфологического анализа биоптатов печени с обязательной оценкой степени активности и стадии патологического процесса и позволяет прогнозировать течение гепатита, выявлять механизмы повреждения и контролировать эффективность терапии, в данном случае терапии стволовыми клетками.

Как уже было сказано ранее, в нашей работе мы анализировали биоптаты печени и оценивали морфологическую картину на трех различных сроках: до введения аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, через 3 мес. и 12 мес. после трансплантации.

При окраске биоптатов печени пикрофуксин-ом по Ван-Гизону и гематоксилин-эозином у всех больных мы наблюдали картину алкогольного стеатогепатита, которая включает в себя стеатоз (микро-, макровезикулярный и смешанный), наличие внутридольковых и портальных воспалительных инфильтратов, состоящих из нейтрофилов и мононуклеарных клеток, а также повреждение гепатоцитов преимущественно в 3-ей зоне ацинуса и области перисинуоидального фиброза [33] (рис. 2 на цв. вклейке).

До трансплантации стволовых клеток индекс гистологической активности (ИГА) колебался в пределах 10–14 баллов, что соответствует умеренному и тяжелому хроническому гепатиту. При сравнительном анализе ИГА через 3 мес. после трансплантации практически у всех больных произошло снижение ИГА на 2 балла, в числовом выражении ИГА находился в интервалах 8–12 баллов (слабовыраженный и умеренный хронический гепатит). Через 12 мес. после аутоперитрансплантации фракции мононуклеаров периферической крови при анализе биоптатов печени мы наблюдали увеличение ИГА в среднем на 2 балла, что свидетельствует

о некотором ухудшении морфологической картины печени и возвращении к первоначальному уровню.

При анализе индекса фиброза мы наблюдали схожую картину: до трансплантации у 3 из 12 пациентов исследуемой группы был диагностирован цирроз, у 9 других пациентов — разные степени фиброза. Через 3 мес. после трансплантации морфологический диагноз цирроза был выставлен только 1 пациенту, через 12 мес. — 2 пациентам.

Одним из важнейших механизмов формирования фиброза печени является капилляризация синусоидов, которая отражает прогрессирование фиброза, сопровождается нарушением обменных процессов между кровью и гепатоцитами и экспрессией CD34 [34]. У пациентов исследуемой группы до трансплантации CD34+ клетки локализовались преимущественно в области портальных трактов и перипортальных инфильтратов. Кроме этого, окрашивались клетки в области порто-портальных и порто-центральных септ, а также единичные клетки в паренхиме печени. Через 3 мес. после трансплантации в синусоидах обнаруживали лишь единичные CD34+ эндотелиальные клетки, то есть эндотелий приобретал свойственный ему в норме фенотип. Через 12 мес. после трансплантации стволовых клеток количество CD34-позитивных клеток вновь увеличивалось, но не достигало первоначального уровня (т. е. до трансплантации) (рис. 3 на цв. вклейке).

Фиброз печени — это одна из причин развития печеночной недостаточности при ее хроническом повреждении. Накопление белков внеклеточного матрикса при фиброзе и циррозе происходит за счет активации фибробластов, которые, приобретая фенотип миофибробластов, начинают синтезировать компоненты соединительной ткани. Выраженность фиброза зависит от количества α-ГМА-позитивных миофибробластов. До трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток у всех пациентов миофибробласты были обнаружены в составе соединительно-тканых септ; это указывало на продолжающийся синтез компонентов соединительной ткани и прогрессирование фиброза. После трансплантации стволовых клеток количество миофибробластов существенно уменьшилось: немногочисленные α-ГМА-позитивные клетки локализовались только в пределах уже сформированных соединительно-тканых септ, в основном же α-ГМА присутствовал в гладкомышечных клетках кровеносных сосудов.

Учитывая, что миофибробласты являются основным источником соединительной ткани в регенерирующей печени, уменьшением их числа можно объяснить восстановление нормальной структуры синусоидных капилляров и обратное развитие перисинуоидального фиброза. Через 12 мес. вновь нарастало число α-ГМА+ клеток, их можно было видеть как в септах, так и в гладкомышечных клетках кровеносных сосудов, однако их количество не достигало начального уровня (рис. 4 на цв. вклейке).

В биоптатах печени больных алкогольным циррозом до трансплантации обнаружено значительное число Vcl-2-позитивных клеток, которые были локализованы как в паренхиме печени, так и в инфильтратах вокруг портальных трактов. В крупных инфильтратах число Vcl-2-позитивных клеток было максимальным, среди них можно было выделить 3 типа клеток: клетки воспалительного инфильтрата с округлым или овальным ядром, клетки с отростками (синусоидные клетки) и единичные гепатоциты. В паренхиме и в мелких инфильтратах преобладали клетки с отростками; наблюдалась слабая экспрессия Vcl-2 в холангиоцитах. Через 3 мес. после трансплантации на фоне улучшения морфологической картины печени наблюдалось снижение экспрессии Vcl-2: в крупных инфильтратах число Vcl-2-позитивных клеток уменьшалось, в мелких — клетки не обнаруживались. Через 12 мес. после трансплантации мы наблюдали все три типа клеток, как и в первичных биопсиях: их число не достигало первоначального уровня, однако превышало число клеток на сроке 3 мес. после трансплантации (рис. 5 на цв. вклейке).

Поскольку экспрессия Vcl-2 рассматривается как один из признаков опухолевой трансформации клеток, уменьшение количества Vcl-2+ клеток позволяет предположить, что в наблюдаемые нами сроки трансплантация гемопоэтических стволовых клеток не приводит к развитию опухолевого процесса в печени, а наоборот, снижает риск канцерогенеза.

ОБСУЖДЕНИЕ

До начала нашей работы в мире были проведены эксперименты на животных и первые фазы клинических исследований, в которых авторы проводили попытки трансплантации стволовых клеток при заболеваниях печени различной этиологии. В отличие от этих работ, наше исследование имеет ряд преимуществ.

Во-первых, это касается способа трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. В работе Terai S. и соавт. [19, 22–24, 35] стволовые клетки пациентам при хронических гепатитах вводили в периферический кровоток, и тогда большая часть клеток «размывалась» по организму, если же стволовые клетки вводились в воротную вену [16, 24, 36, 37], то в этом случае все клетки поступали в печень с венозной кровью. В других работах зарубежных авторов [26, 38–41] введение стволовых клеток пациентам с циррозом печени как в печеночную артерию, так и в портальную вену описывается как безопасная и эффективная процедура. Однако в работе Mohamadnejad M. и соавт. после введения CD34+ клеток в печеночную артерию 4 больным с декомпенсированным циррозом печени у одного больного в течение нескольких дней после процедуры развилась радиоcontrastная нефропатия и гепаторенальный синдром, которые стали причиной его летального исхода. Исходя из этого,

исследователи сделали вывод, что введение CD34+ клеток в печеночную артерию больным в стадии декомпенсированного цирроза небезопасно [20].

Что касается введения клеток в воротную вену, то оно также небезопасно на фоне портальной гипертензии у пациентов с циррозом печени и может привести к внутреннему кровотечению в месте введения иглы. Исходя из этого, было сделано предположение о том, что наиболее безопасным будет введение клеток не в воротную вену, а в артериальный кровоток. Стволовые клетки вводили непосредственно в чревный ствол, что должно было, по нашему мнению, обеспечить доставку трансплантированных клеток в печень как с артериальным, так и с венозным кровотоком: часть клеток сразу попадала в печень по общей печеночной артерии, оставшаяся часть клеток, которая ушла к желудку и к селезенке, попадала в печень с венозной кровью через воротную вену.

Учитывая, что кровь в печень поступает по двум сосудам: воротной вене (венозная кровь от всех непарных органов брюшной полости) и печеночной артерии (артериальная кровь из аорты), — преимуществом такого метода введения, по нашему мнению, является не только его безопасность, но и возможность воздействовать стволовыми клетками на разные участки печеночной доли.

Другой особенностью нашего исследования является способ оценки эффективности проведенной трансплантации. В большинстве работ, в которых использовались стволовые клетки для лечения циррозов печени, эффективность трансплантации оценивалась по биохимическим показателям, таким как уровень билирубина, альбумина, общего белка, АЛТ, АСТ и протромбинового времени, а также по изменению выраженности асцита и тяжести цирроза печени по шкале Чайлд-Пью и индексу MELD. Однако уровни аминотрансфераз не отражают гистологические изменения в печени и не имеют прогностической значимости [42]. В нашей работе, в отличие от других клинических исследований, мы использовали методы иммуногистохимической оценки эффективности трансплантации.

Третье отличие нашей работы заключается в сроках наблюдения за пациентами после трансплантации. В работе Terai S. срок наблюдения за пациентами составлял 6 мес., причем они исследовали биопсии печени только на двух сроках: до трансплантации клеток костного мозга и через 4 недели после трансплантации. Иммуногистохимически авторы оценивали экспрессию альфа-фетопротеина и PCNA* и обнаружили значительное усиление

* PCNA (Proliferative Cell Nuclear Antigen) — ядерный антиген пролиферирующих клеток.

экспрессии этих маркеров в ткани печени через 4 недели после трансплантации клеток костного мозга в периферическую вену [19]. Проведены лишь единичные исследования со сроками наблюдения после трансплантации большими, чем в нашей работе, однако в этих исследованиях оценивались только клинические и лабораторные показатели [35, 43].

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток в чревный ствол пациентам с алкогольным циррозом печени является эффективной и безопасной процедурой и не наносит вреда здоровью пациентов. Трансплантированные стволовые клетки способны восстанавливать структуру эндотелия синусоидов, уменьшая выраженность их капилляризации. Параллельно этому сокращается число

Vs1-2-позитивных клеток, что указывает на уменьшение риска канцерогенеза в печени. Полученные результаты позволяют говорить о перспективности данного метода лечения для подавления фиброгенеза в печени, а также о высокой информативности иммуногистохимических методов в оценке эффективности трансплантации. Вместе с тем, некоторое ухудшение морфологических показателей через 12 мес. после трансплантации клеток предполагает необходимость повторного введения клеток в течение года после первой процедуры.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Исследования проведены в рамках Республиканской программы «Развитие клеточной медицины в Республике Татарстан» на базе Республиканской клинической больницы МЗ РТ и частично поддержаны грантом Президента РФ для молодых ученых (МК-7805.2010.7).

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO Expert Committee on Problems Related to Alcohol Consumption. Meeting 2nd. World Health Organization technical report series; No. 944. — 2006. — P.
2. Global strategy to reduce the harmful use of alcohol. World Health Organization, 2010.
3. Crabb D. W., Matsumoto M., Chang D. et al. Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology // Proc. Nutr. Soc. — 2004. — Vol. 63. — P. 49–63.
4. Хазанов А. И. Эволюция этиологических факторов циррозов печени по результатам 58-летних наблюдений за больными в крупном многопрофильном стационаре // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2004. — Т. 14. — № 3. — С. 66–72.
5. Petersen B. E., Bowen W. C., Patrene K. D. et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells // Science. — 1999. — Vol. 284. — P. 1168–1170.
6. Lagasse E., Connors H., Al-Dhalimy M. et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo // Nat. Med. — 2000. — Vol. 6, № 11. — P. 1229–1234.
7. Theise N. D., Badve S., Saxena R. et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation // Hepatology. — 2000. — Vol. 31, № 1. — P. 235–240.
8. Theise N. D., Nimmakayalu M., Gardner R. et al. Liver from bone marrow in humans // Hepatology. — 2000. — Vol. 32. — P. 11–16.
9. Jiang Y., Jahagirdar B. N., Reinhardt R. L. et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow // Nature. — 2002. — Vol. 418. — P. 41–49.
10. Alison M. R., Poulson R., Jeffery R. et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells // Nature. — 2000. — Vol. 406, № 6793. — P. 257.
11. Румянцев А. Г., Масчан А. А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: Руководство для врачей — М.: Медицинское информационное агентство, 2003. — 912 с.
12. Fujii H., Hirose T., Oe S. et al. Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice // J Hepatol. — 2002. — Vol. 36, № 5. — P. 653–659.
13. Masson S., Harrison D. J., Plevris J. N. et al. Potential of hematopoietic stem cell therapy in hepatology: a critical review // Stem cells. — 2004. — Vol. 22, № 6. — P. 897–907.
14. Kakinumaa S., Tanakaa Y., Chinzeia R. et al. Human Umbilical Cord Blood as a Source of Transplantable Hepatic Progenitor Cells // Stem Cells. — 2003. — Vol. 21. — P. 217–227.
15. Tang X. P., Yang X., Tan H. et al. Clinical and experimental study on therapeutic effect of umbilical cord blood transplantation on severe viral hepatitis // World J. Gastroenterol. — 2003. — Vol. 9, № 9. — P. 1999–2003.
16. Am Esch II J. S., Knoefel W. T., Klein M. et al. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration // Stem Cells. — 2005. — Vol. 23, № 4. — P. 463–470.
17. Am Esch II J. S., Schmelzle M., Furst G. et al. Infusion of CD133+ bone marrow-derived stem cells after selective portal vein embolization enhances functional hepatic reserves after extended right hepatectomy: a retrospective single-center study // Ann Surg. — 2012. — Vol. 255, № 1. — P. 79–85.
18. Gordon M. Y., Levicar N., Pai M. et al. Characterization and clinical application of human CD34+ stem/progenitor cell populations mobilized into the blood by granulocyte colony-stimulating factor // Stem Cells. — 2006. — Vol. 24, № 7. — P. 1822–1830.
19. Terai S., Ishikawa T., Omori K. et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy // Stem Cells. — 2006. — Vol. 24. — P. 2292–2298.
20. Mohamadnejad M., Namiri M., Bagheri M. et al. Phase I human trial of autologous bone marrow-hematopoietic stem cell transplantation in patients with decompensated cirrhosis // World J Gastroenterol. — 2007. — Vol. 13, № 24. — P. 3359–3363.
21. Khan A. A., Parveen N., Mahaboob V. S. et al. Safety and efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation through hepatic artery for the treatment of chronic liver failure: a preliminary study // Transplantation Proceedings. — 2008. — Vol. 40, № 4. — P. 1140–1144.
22. Kim J. K., Park Y. N., Kim J. S. et al. Autologous bone marrow infusion activates the progenitor cell compartment in patients with advanced liver cirrhosis // Cell Transplantation. — 2010. — Vol. 19, № 10. — P. 1237–1246.
23. Mohamadnejad M., Alimoghaddam K., Mohyeddin-Bonab M. et al. Phase I trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis // Archives of Iranian Medicine. — 2007. — Vol. 10, № 4. — P. 459–466.
24. Kharaziha P., Hellstrom P. M., Noorinayer B. et al. Improvement of liver function in liver cirrhosis patients after autologous mesenchymal stem cell injection: a phase I-II clinical trial // European Journal of Gastroenterology & Hepatology. — 2009. — Vol. 21, № 10. — P. 1199–1205.
25. Lyra A. C., Soares M. B., da Silva L. F. et al. Feasibility and safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with advanced chronic liver disease // World J Gastroenterol. — 2007. — Vol. 13, № 7. — P. 1067–1073.
26. Lyra A. C., Soares M. B., Da Silva L. F. M. et al. Infusion of autologous bone marrow mononuclear cells through hepatic artery results in a short-term improvement of liver function in patients with chronic liver disease: a pilot randomized controlled study // European Journal of Gastroenterology and Hepatology. — 2010. — Vol. 22, № 1. P. 33–42.
27. Куясов А. П., Одинцова А. Х., Гумерова А. А. и соавт. Трансплантация аутогенных гемопоэтических стволовых клеток больным хроническими гепатитами // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2008. — Т. III, № 1. — С. 70–75.
28. Куясов А. П. Современные технологии морфологических исследований: методическое пособие для студентов, аспирантов и врачей-патологов. — Казань: КГМУ, 2001. — 38 с.

29. *Mulhall B. P., Younossi Z. M.* Nonalcoholic steatohepatitis // *Curr Treat Options Gastroenterol.* — 2004. — Vol. 7, № 6. — P. 423–430.
30. *Koruk M., Taysi S., Savas M. C. et al.* Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis // *Ann Clin Lab Sci.* — 2004. — Vol. 34, № 1. — P. 57–62.
31. *Fierbinteanu-Braticevici C., Bengus A., Neamtu M. et al.* The risk factors of fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis // *Rom J Intern Med.* — 2002. — Vol. 40, № 1 — 4. — P. 81–88.
32. *Газизов И. М.* Изменение микроархитектоники печени и активация в ней стволовых клеток после частичной гепатэктомии у крыс: автореф. дис. на соискание научной степени канд. мед. наук. Казанский гос. мед. университет. — Казань, 2009. — 20 с.
33. *Tiniakos D. G.* Liver biopsy in alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis patients // *Gastroenterol Clin Biol.* — 2009. — Vol. 33, № 10–11. — P. 930–939.
34. *Одинцова А. Х.* Патогенетические механизмы клеточных реакций перисинусоидального фиброза при неалкогольной жировой болезни печени: автореф. дис. на соискание научной степени канд. мед. наук. Казанский гос. мед. университет. — Казань, 2005. — 20 с.
35. *Yannaki E., Anagnostopoulos A., Kapetanios D. et al.* Lasting amelioration in the clinical course of decompensated alcoholic cirrhosis with boost infusions of mobilized peripheral blood stem cells // *Experimental Hematology.* — 2006. — Vol. 34, № 11. — P. 1583–1587.
36. *Gasbarrini A., Rapaccini G. L., Rutella S. et al.* Rescue therapy by portal infusion of autologous stem cells in a case of drug-induced hepatitis // *Digestive and Liver Disease.* — 2007. — Vol. 39, № 9. — P. 878–882.
37. *Furst G., Am Esch J. S., Poll L. W. et al.* Portal vein embolization and autologous CD133+ bone marrow stem cells for liver regeneration: initial experience // *Radiology.* — 2007. — Vol. 243, № 1. — P. 171–179.
38. *Salama H., Zekri A. R., Bahnassy A. A. et al.* Autologous CD34+ and CD133+ stem cells transplantation in patients with end stage liver disease // *World J Gastroenterol.* — 2010. — Vol. 16, № 42. — P. 5297–5305.
39. *Gupta D. K., Sharma S., Venugopal P. et al.* Stem cells as a therapeutic modality in pediatric malformations // *Transplant Proc.* — 2007. — Vol. 39, № 3. — P. 700–702.
40. *Pai M., Zacharoulis D., Milicevic M. N. et al.* Autologous infusion of expanded mobilized adult bone marrow-derived CD34+ cells into patients with alcoholic liver cirrhosis // *The American Journal of Gastroenterology.* — 2008. — Vol. 103, № 8. — P. 1952–1958.
41. *Yan L., Han Y., Wang J. et al.* Peripheral blood monocytes from patients with HBV related decompensated liver cirrhosis can differentiate into functional hepatocytes // *The American Journal of Hematology.* — 2007. — Vol. 82, № 11. — P. 949–954.
42. *Sougioultzis S., Dalakas E., Hayes P. C. et al.* Alcoholic hepatitis: from pathogenesis to treatment // *Curr Med Res Opin.* — 2005. — Vol. 21, № 9. — P. 1337–1346.
43. *Levicar N., Pai M., Habib N. A. et al.* Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34+ cells in patients with chronic liver disease // *Cell Proliferation.* — 2008. — Vol. 41, № 1. — P. 115–125.