

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕПАТОЦИТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

М. С. Долгих

Лаборатория биотехнологии стволовых клеток ФНЦ Научно-исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов им. акад. В. И. Шумакова Минздравсоцразвития РФ, Москва

Трансплантация гепатоцитов может стать дополнительной стратегией лечения заболеваний печени. Для поддержки печени перед ее трансплантацией предложено несколько методов, включая экстракорпоральные устройства, трансплантацию клеток и имплантируемые модули, созданные на основе тканевой инженерии. Способность здоровых и устойчивых к болезням гепатоцитов репопулировать печень могла бы дать новые возможности коррекции генетических нарушений и лечения пациентов с хроническими заболеваниями печени. В обзоре суммированы результаты экспериментальной и клинической терапии болезней печени.

Ключевые слова: трансплантация гепатоцитов, болезни печени

THE CLINICAL EXPERIENCE WITH HEPATOCYTE TRANSPLANTATION FOR THE TREATMENT OF HEPATIC INSUFFICIENCY

M.S. Dolgikh

Research Institute of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

Hepatocyte transplantation represents a supplementary strategy for treating liver diseases. Several methods including extracorporeal devices, cell transplantation and implanted tissue-engineered units were proposed as liver support before liver transplantation. The ability to repopulate the liver with healthy and disease-resistant hepatocytes opens up new possibilities for correcting genetic disorders and treating patients with chronic liver diseases. Some results of experimental and clinical therapy of liver diseases are summarized in this review.

Key words: hepatocyte transplantation, liver diseases

Ортогепатическая пересадка печени остается основным методом лечения печеночной недостаточности, однако осуществление операций сдерживается недостатком донорских органов. Трансплантация гепатоцитов может быть дополнительным методом лечения болезней печени. Этот метод менее травматичен, технически гораздо проще трансплантации печени и не требует удаления собственно печени реципиента. Кроме того, трансплантация гепатоцитов может быть произведена повторно.

Трансплантация гепатоцитов (как нормальных, так и генетически модифицированных) может быть использована для терапии ряда врожденных нарушений функций печени и печеночной недостаточности разной этиологии. Такие болезни, как гиперхолестеролемиа, характеризующаяся измененной экспрессией рецептора липопротеинов низкой плотности и острой дислипидемией и другие, могут корректироваться путем трансплантации гепатоцитов.

После многочисленных экспериментов на животных трансплантация гепатоцитов была использована в клинике для лечения десятков пациентов с целью восстановления функций печени в качестве «моста» к трансплантации и в некоторых случаях даже без выполнения трансплантации печени. Применение аллогенных гепатоцитов требует иммуносупрессии, поэтому в настоящее время разрабатывают методики использования аутологичных гепатоцитов. Многочисленные публикации сообщают о методах выделения гепатоцитов из печени, способах их культивирования и условиях их имплантации, выживания и функционирования *in vivo*. В модельных опытах на животных изучают терапевтическую эффективность заселения печени трансплантированными гепатоцитами и возможность лечения различных заболеваний, приводящих к печеночной недостаточности.

Очевидно, что для трансплантации необходимо иметь достаточное количество гепатоцитов, а для лучшего выживания и функционирования трансплантированных гепатоцитов необходимо обеспечить им оптимальное микро-

окружение, приближающееся к природному, обеспечивающее сохранность цитоскелета и снабжение необходимыми питательными веществами и факторами. Для этого предлагают различные подложки (матрицы), кокультивирование с непаренхиматозными клетками (например, с клетками поджелудочной железы), предварительную частичную гепатэктомия и портокавальное шунтирование.

Трансплантация гепатоцитов для лечения нарушений функций печени

Трансплантация гепатоцитов при хронических заболеваниях печени. Многочисленные эксперименты по трансплантации гепатоцитов при болезнях печени были проведены на моделях грызунов. Трансплантация гепатоцитов для лечения нарушений функций печени у человека была впервые описана в 1992 г. М. Mito и соавт. [1], которые трансплантировали аутологичные гепатоциты 10 пациентам с циррозом печени или хроническим гепатитом. Гепатоциты трансплантировали в селезенку. Трансплантированные клетки можно было определить методом радионуклидного сканирования в селезенке через 11 мес после трансплантации. К сожалению, введение аутологичных гепатоцитов было неэффективным у больных с циррозом печени [1]. Нескольким пациентам с печеночной недостаточностью в США были трансплантированы аллогенные гепатоциты через селезеночную артерию; при этом наблюдали улучшение состояния пациентов и функции печени [2]. К 2001 г. более чем у 40 пациентов в США была произведена клиническая трансплантация гепатоцитов в связи с различными заболеваниями печени [3—13].

В настоящее время считают, что необходимо по меньшей мере 20% нормальной массы гепатоцитов, чтобы печень функционировала в пределах нормальных физиологических параметров. К сожалению, количество гепатоцитов, которое реально можно трансплантировать пациентам, ограничено и составляет менее 5% есте-

ственной массы печени реципиента из-за сложностей, связанных с их выделением и культивированием [13].

Трансплантация гепатоцитов при острой печеночной недостаточности. Клеточная терапия при явлениях острой печеночной недостаточности особенно привлекательна, так как способна обеспечить пролонгацию выживания и снятие острых симптомов до пересадки печени и может даже исключить пересадку печени. Это было показано на различных моделях [14].

Трансплантацию гепатоцитов применяли в ряде случаев для лечения острой печеночной недостаточности, вызванной острыми токсическими гепатитами, алкогольным циррозом печени или последствиями экстенсивного хирургического вмешательства на печени. S. Strom и соавт. трансплантировали аллогенные гепатоциты (10^7) в селезенку у 5 больных с острой печеночной недостаточностью. Все 5 пациентов дожили до трансплантации печени в отличие от 4 больных контрольной группы со стандартной терапией, которые не дожили до пересадки [2].

У 7 больных с острой печеночной недостаточностью произведено интраперитонеальное введение фетальных гепатоцитов, после чего состояние некоторых из них улучшилось; 2 больных с III стадией энцефалопатии полностью вылечились, и им не понадобилась трансплантация целого органа [8]. В группе больных с аналогичной стадией энцефалопатии, которые не получили трансплантированных гепатоцитов, не наблюдали спонтанного выздоровления [5].

В другом клиническом исследовании у 5 больных с острой печеночной недостаточностью трансплантировали криопрезервированные и оттаянные аллогенные гепатоциты через селезеночную (у 4) и/или печеночную (у 2) артерию методом ангиографии. Пациенты получили циклоспорин. Все больные имели III или IV степень энцефалопатии и уровень фактора V менее 0,5 на 1 мл, были на диализе и искусственной вентиляции легких и не были кандидатами на пересадку печени. У 3 из 5 больных, которые выжили в течение 10 сут и более, выявлено улучшение функций головного мозга, клиренса антипирина и кофеина в течение 24—72 ч после трансплантации [7].

У 18 больных с острой печеночной недостаточностью, которые ожидали пересадку печени, произведена трансплантация гепатоцитов в разных институтах [2—6]. Из них 6 больных успешно дождались пересадки печени, которая состоялась через 1—10 дней после трансплантации гепатоцитов [3, 4], 2 пациента полностью выздоровели, 10 больных умерли через 2 мес после трансплантации гепатоцитов [3]. Подобные результаты описаны и другими авторами [8]. В контрольной группе больных с острой печеночной недостаточностью не наблюдалось выздоровления [5, 13]. Эти исследования показывают важную роль трансплантации гепатоцитов во время критической фазы дисфункции печени при острой печеночной недостаточности [13]. Показано, что при введении гепатоцитов в портальную вену больным с острой печеночной недостаточностью наблюдалось приживание гепатоцитов в печени, что сопровождалось улучшением состояния пациентов с печеночной энцефалопатией [2].

Из этих исследований очевидно, что трансплантация гепатоцитов пациентам с острой печеночной недостаточностью безопасна и часто дает положительный эффект.

Показания для трансплантации гепатоцитов при нарушениях метаболизма. Трансплантация гепатоцитов при наследственных метаболических дефектах у детей — одна из немногих клеточных технологий, реально применяемых в клинической практике. Широкому распространению метода препятствуют отсутствие данных о долговременной метаболической коррекции и сложность технологии. Показания к трансплантации гепатоцитов приведены в табл. 1.

Эффективность аллогенной трансплантации трупных гепатоцитов была показана при различных нарушениях

Таблица 1. *Условия, потенциально подходящие для лечения гепатоцитами [14].*

Болезни печени	Болезни других органов
<i>Генетические</i>	<i>Состояния метаболического дефицита</i>
Болезнь Вильсона	Конгенитальная гипербилирубинемия
Дефицит α_1 -антитрипсина	Семейная гиперхолестеролемиа
Эритропоэтическая протопорфирия	Синдромы гипераммонемии
Липидозы, т. е. болезнь Нимана—Пика	Дефекты метаболизма углеводов
Тирозинемия типа 1	Оксалозы
<i>Приобретенные</i>	<i>Нарушения свертывания крови</i>
Острая печеночная недостаточность	Гемофилия А
Хронические вирусные гепатиты	Дефицит фактора IX
Циррозы и печеночная недостаточность	<i>Иммунные нарушения</i>
	Наследственная ангиоэдема

метаболизма: при синдроме Криглера—Найяра (нарушение обмена билирубина, конгенитальная гипербилирубинемия) [11, 15, 16], дефекте пероксином [17], различных нарушениях обмена мочевины [18—20] и гликогена [21], при нарушениях свертывания крови [22, 23].

В 1998 г. I. Fox и соавт. [11] сообщили об успешной трансплантации аллогенных гепатоцитов ($7,5 \cdot 10^9$) через портальную вену с синдромом Криглера—Найяра типа 1 у 5 больных. Уровень билирубина снижался и оставался сниженным в течение 9—18 мес.

Сообщалось об использовании метода трансплантации гепатоцитов, полученных от доноров, совместимых по АВ0, для коррекции наследственного дефицита фактора VII. Гепатоциты выделяли по методу R. Mitry и соавт. [18] из сегментов трех трупных органов, совместимых по АВ0 и непригодных для трансплантации. Клетки использовали немедленно или подвергали кратковременному криохранению. Гепатоциты вводили в дозах 1 и 2 млрд через катетер, установленный в нижнюю брыжеечную вену из лапаротомического доступа. Иммуносупрессия включала метилпреднизолон (затем преднизолон) и такролимус. Метаболическая коррекция наблюдалась в первые дни после введения клеток и проявлялась в постепенном повышении концентрации фактора VII в плазме и в снижении дозы рекомбинантного фактора [22].

Имеются сообщения о трансплантации аутологичных гепатоцитов, модифицированных *ex vivo* введением гена рецептора LDL, у больного с семейной гиперхолестеролемией. Гепатоциты культивировали в присутствии сывотки, причем удалось достигнуть стабильного трансфера гена рецептора LDL с помощью ретровирусного гена. Получены положительные клинические результаты [24].

У больных с семейной гиперхолестеролемией произведена трансплантация аутологичных гепатоцитов, выделенных после частичной гепатэктомии, и трансфицированных функциональным геном липопротеинов низкой плотности. Несмотря на приживание и функционирование трансплантированных клеток, реального стабильного клинического улучшения не наблюдали [9].

У больных с дефицитом орнитинтранскарбамилазы произведена трансплантация гепатоцитов. У одного больного первоначально отмечено клиническое улучшение, однако он умер через 7 нед с явлениями гиперам-

монемии. Второй больной также имел первоначально улучшение, но через 11 дней функция была утрачена и потребовалась трансплантация печени. У третьего больного не было гипераммониемии, но наблюдался увеличенный синтез мочевины и требовалась диета и лекарственная терапия [2, 18—20].

У больных с прогрессирующим семейным внутривенным холестазом произведена трансплантация гепатоцитов с временным (5 и 14 мес) улучшением состояния [25].

Имеются сообщения о том, что более 20 больных были подвергнуты трансплантации гепатоцитов в связи с метаболическими нарушениями, связанными с различными заболеваниями печени [23, 26].

В 2005 г. Н. Вагг и соавт. [27] описали результаты многолетних исследований по терапии печеночной недостаточности методом трансплантации гепатоцитов. В клинических испытаниях участвовали 500 больных. Гепатоциты выделяли из кусков донорской печени, β -клетки из островков Лангерганса — из биоптатов. Затем подрощенные клетки обоих типов помещали на высокопористый трехмерный матрикс из полимолочной кислоты, покрытый телячьим коллагеном типа 1. Из 500 больных 10 подробно описаны. Из 10 больных у 9 наблюдали улучшение как биохимических показателей, так и общего состояния и самочувствия. 2 пациента исключены из листа ожидания, так как больше не нуждались в пересадке печени. У 1 больного не наступило улучшения. Ни в одном случае не было ухудшения и послеоперационных осложнений. Достигнутые улучшения были стойкими [27].

Подводя итоги, можно заключить, что при трансплантации гепатоцитов часто наблюдаются положительный эффект и восстановление, иногда полное, функции печени. Этот эффект, однако, обычно имеет временный характер, причем улучшение длится от нескольких дней до нескольких месяцев (до 6—18 мес). В последующем, как правило, необходима трансплантация печени.

Количество клеток для введения. В настоящее время не существует единого мнения по поводу того, сколько гепатоцитов, куда и в каких случаях необходимо вводить. В печени человека имеется $1\text{--}2 \cdot 10^{11}$ гепатоцитов. Считается, что $1/3$ этого количества может обеспечить функцию печени. Расчеты К. Воцжета [28] показали, что для нормальной функции печени требуется не менее 2500 млн гепатоцитов. Есть, однако, данные, свидетельствующие о том, что 0,5—3% паренхиматозных клеток могут существенно восстановить функцию печени [28—30].

S. Strom и соавт. [29] рассматривают вопрос о том, сколько гепатоцитов необходимо для обеспечения функции печени. В большинстве опубликованных работ не определяли количество гепатоцитов, выживших после трансплантации. Но и без этого измерения стало понятно, что неожиданно малое количество трансплантированных клеток способно обеспечить значительное улучшение функции печени и может спасти животных от острой печеночной недостаточности. Большинство исследований выполнено на крысах, а зрелая печень крысы содержит примерно 500 млн гепатоцитов. Обычно животному-реципиенту вводили $1 \cdot 10^9$ гепатоцитов, что соответствует 2% содержания клеток в печени. В большинстве экспериментов менее 10% трансплантированных гепатоцитов выживали в течение нескольких дней. Таким образом, лишь 0,2% массы клеток печени обеспечивали достаточно долговременную функцию. Серьезный положительный эффект обеспечивали уже $1 \cdot 10^7$ гепатоцитов [29]. Трансплантация 2% от массы печени гепатоцитов крыс приводила к увеличению синтеза альбумина в 15 раз и к подъему уровня альбумина до 60% от нормального показателя, а также снижала уровень билирубина на 50% на модели гипербилирубиновых крыс [29]. O. Schumacher и соавт. сообщили, что трансплантация иммортализованных гепатоцитов в количестве 2—3% от массы печени предотвраща-

ла энцефалопатию, индуцированную введением аммония ацетата крысам с портокавальным шунтированием [31].

Трансплантация малого количества гепатоцитов вызывала повышение выживаемости животных при моделировании печеночной недостаточности. Трансплантация гепатоцитов в количестве 2% от массы печени приводила к долговременному выживанию 60% крыс, подвергнутых 90% гепатэктомии, в то время как в контроле ни одно животное не выжило. Трансплантация гепатоцитов в количестве 1—2% от массы печени также увеличивала выживаемость животных с химически индуцированной печеночной недостаточностью в 10 раз [29]. Так, при трансплантации гепатоцитов в количестве только 2—3% от массы печени в организм кроликов Watanabe с гиперлипидемией отметили снижение уровня холестерина на 40% [32].

По данным J. Gunsalus и соавт. [33], количество выживших после трансплантации гепатоцитов составляло только 1—5% от 10% массы печени введенных клеток. При этом авторы наблюдали снижение уровня холестерина в сыворотке экспериментальных животных (кроликов Watanabe) на 40%. Эти данные предполагают, что гепатоциты, введенные в количестве 0,1—0,5% от массы печени, вызывают уменьшение содержания холестерина в сыворотке на 40% [33].

M. Grossman и соавт. сообщили о том, что 300 млн трансдуцированных LDL гепатоцитов (0,1—0,2% от массы печени) дали уменьшение сывороточного холестерина на 20% [24].

Эти данные показывают, что для обеспечения существенной поддержки печени гепатоциты требуются гораздо меньше, чем ожидалось. По-видимому, при трансплантации гепатоциты функционируют на гораздо более высоком уровне, чем нормальные гепатоциты в целой печени, или же лишь малая часть гепатоцитов, действительно, выполняет все функции печени, а остальные клетки находятся в резерве [5]. Количество гепатоцитов, которое может быть реально трансплантировано реципиенту, ограничено менее чем 5% от естественной массы печени реципиента [13].

В табл. 2 приведены некоторые примеры использования гепатоцитов для терапии различных заболеваний в клинике.

Место введения гепатоцитов. С целью улучшения включения клеток в ткани реципиента современная методика трансплантации гепатоцитов предлагает их интрапортальное введение через сосудистый катетер [15, 16, 23, 34]. Метод был разработан в Канаде A. Shapiro и соавт. [35] для трансплантации островковых клеток при сахарном диабете и считается методом выбора в клинической практике. Показано также, что для успешного результата необходимо, как правило, однократное введение клеток, что увеличивает риск тромбоза. В связи с этим разрабатывают другие варианты имплантации клеток в организм, например на матриксе.

Есть данные, что эктопическая трансплантация также эффективна. При этом имеется в виду трансплантация гепатоцитов в брюшную полость [8, 15], под капсулу почки, в селезенку [15], в межлопаточную жировую прослойку [15]. Эктопическая трансплантация имеет преимущество в том отношении, что большое количество гепатоцитов можно вводить путем минимально инвазивной техники, причем такой путь введения гораздо реже приводит к осложнениям.

Иммобилизованные на носителях гепатоциты имплантировали в разные места, включая брюшину, брыжейку [27, 36], а также в селезенку, печень, поджелудочную железу, легочную артерию, сальник или подкожно [13, 37].

Независимо от места введения трансплантированные донорские гепатоциты живут недолго, что обусловлено главным образом неадекватным приживлением и отсут-

Таблица 2. Трансплантация гепатоцитов человека в клинике [13].

Источник литературы	Болезнь печени	Тип трансплантируемых гепатоцитов	Число трансплантированных гепатоцитов	Путь трансплантации
M. Mito и соавт. [1]	ЦП ($n = 9$) ХГ ($n = 1$)	Свежеизолированные аутогепатоциты	$1,7 \cdot 10^7$ — $6,0 \cdot 10^8$	Интрапортальный
C. Habibullah и соавт. [8]	ОПН ($n = 7$)	Фетальные гепатоциты	$6 \cdot 10^7$ /кг	Интраселезеночный
M. Grossman и соавт. [9], S. Raper и соавт. [12]	СХ ($n = 5$)	Гепатоциты, трансфецированные LDL-рецептором	$1 \cdot 10^9$ — $3 \cdot 10^9$	Интраперитонеальный
S. Strom и соавт. [2, 3]	Дефицит α -АТ ($n = 1$), ЦП ($n = 1$), сепсис ($n = 1$), ОПН ($n = 3$), дефицит орнитин-транскарбамиллазы ($n = 1$)	Гепатоциты криопрезервированные в течение 1,5 нед — 8 мес ($n = 5$) или культивированные 48 ч ($n = 1$)	$7,5 \cdot 10^6$ — $1,8 \cdot 10^8$	Интрапортальный
H. Soriano и соавт. [6]	ОПН ($n = 3$)	Гепатоциты криопрезервированные	$4 \cdot 10^7$ — $4 \cdot 10^9$	Интраселезеночный
B. Bilir и соавт. [7]	ОПН ($n = 30$)	Гепатоциты криопрезервированные в течение 1—8 мес ($n = 5$, нд; $n = 3$)	$3 \cdot 10^9$	Интрапортальный
I. Fox и соавт. [11]	Синдром К-Н ($n = 1$)	Свежеизолированные гепатоциты	$7,5 \cdot 10^9$	Интрапортальный
R. Fisher и соавт. [4]	ОПН ($n = 1$)	То же	$8,8 \cdot 10^8$	Интрапортальный

Примечание. ЦП — цирроз печени; ХГ — хронический гепатит; ОПН — острая печеночная недостаточность; СХ — гомозиготная семейная гиперхолестеролемиа; дефицит α -АТ — дефицит α_1 -антитрипсина; синдром К-Н — синдром Кригlera—Найяра.

ствием неоваскуляризации, обеспечивающей их выживание. Усилия многих лабораторий направлены на обеспечение такого выживания, и достигнуты некоторые успехи в этой области. Вместе с тем следует признать, что в настоящее время накопление гепатоцитов, обеспечение их выживания остается сложной задачей. В некоторых лабораториях гепатоциты накапливали и сохраняли путем замораживания, причем они затем были успешно использованы для терапии печеночной недостаточности (см. табл. 2). Более реально использовать дезагрегированные гепатоциты части печени, непригодной для пересадки.

Генно-инженерные модификации гепатоцитов помогут найти решение вопроса в плане не только лечения генетических наследственных болезней, но и создания иммортализованных линий гепатоцитов (путем трансфекции онкогена или путем культивирования в коллагеновом геле сэндвич-методом). Эти иммортализованные клетки сохраняют морфологические и функциональные характеристики дифференцированных гепатоцитов в течение нескольких пассажей и были успешно использованы для лечения животных с разными формами печеночной недостаточности [13]. В последнем случае, однако, существует опасение развития рака печени. Для того чтобы избежать подобного перерождения, онкоген перед трансплантацией клеток желателно удалить. На животных выполнены оригинальные и успешные работы, в которых показана реальная возможность удаления онкогена [38—42].

Заключение

Проблема накопления хорошо функционирующих гепатоцитов остается актуальной задачей. Помимо трудностей, связанных с культивированием, неэффективность приживления гепатоцитов (около 1—10%) и плохое выживание клеток остаются главным ограничением применения этой техники в клинической практике. В связи с этим улучшение адгезии и транслокации гепатоцитов в существующую паренхиму печени является основной стратегией развития клеточной гепатологии.

Резюмируя мировой опыт клинического использования трансплантации гепатоцитов за последние 10 лет, можно сделать следующие выводы:

- трансплантация гепатоцитов пока не может служить самостоятельным методом лечения тяжелых заболеваний и повреждений печени, а является лишь «мостом» к трансплантации донорского органа;
- метод позволяет надежно корригировать метаболические дефекты (как наследственные, так и появившиеся при развитии острой печеночной недостаточности различного генеза), связанные с нарушением функции гепатоцитов, в течение нескольких месяцев;
- метод инвазивен и поэтому доступен только в соответствующих клиниках;
- более широкое применение методов клеточной терапии в клинической практике и развитие трансплантации гепатоцитов будет связано с поиском новых источников клеточного материала (культивирование собственных гепатоцитов, генно-модифицированных алло- и ксеногепатоцитов, клеточных линий стволовых клеток трупной печени, клеток костного мозга, дифференцировка и экспансия собственных стволовых клеток).

В настоящее время нет единого мнения по поводу того, сколько, каких клеток и в какое место следует вводить для получения оптимального результата. Результаты многочисленных исследований указывают на то, что даже небольшие количества трансплантированных гепатоцитов (2—5% от массы печени) могут существенно, хотя и временно, улучшить функцию больной печени, например при метаболических дефектах. Как показано на животных, количество гепатоцитов, соответствующее 10% массы печени, при оптимизации условий трансплантации (предварительная резекция части печени, портокавальное шунтирование, кокультивирование аутогепатоцитов с непаренхиматозными клетками, трансгенное вмешательство, введение гепатотоксинов перед трансплантацией) способно обеспечить положительный результат до 1 года и более. Критическим элементом для эффективной регенерации являются гепатотрофное окружение и пригодность места трансплантации для клеточного роста.

В противоположность методам поддержки печени, основанным на интрапортальном или интрапаренхимальном введении гепатоцитов, применение метода эктопической трансплантации гепатоцитов на полимер-

ных матриксах уменьшает опасность возникновения портальной гипертензии или легочной эмболии. Имплантируемые подкожно, матриксы могли бы при необходимости легко удаляться.

Поскольку проблема накопления и выживания гепатоцитов, как теперь уже очевидно, решается с большим трудом, несмотря на значительные затраченные усилия разных лабораторий, перспективным можно считать направление, связанное с созданием иммортализованных линий гепатоцитов.

Сведения об авторе:

Долгих Марина Семеновна — ст. науч. сотр.; e-mail:marindolgik@yandex.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. Mito M., Kusano M., Kawaura Y. Hepatocyte transplantation in man. *Transplant. Proc.* 1992; 24: 3052—3053.
2. Strom S. C., Fisher R. A., Rubinstein W. S. et al. Transplantation of human hepatocytes. *Transplant. Proc.* 1997; 29: 2103—2106.
3. Strom S. C., Chowdhury J. R., Fox U. Hepatocyte transplantation for the treatment of human disease. *Semin. Liver Dis.* 1999; 19: 39—48.
4. Fisher R. A., Bu D., Thompson M. et al. Defining hepatocellular chimerism in a liver failure patient bridged with hepatocyte infusion. *Transplantation* 2000; 69: 303—307.
5. Strom S. C., Fisher R. A., Thompson M. T. et al. Hepatocyte transplantation as a bridge to ortotopic liver transplantation in terminal liver failure. *Transplantation* 1997; 63: 559—569.
6. Soriano H. E., Wood R. P., Kang D. C. et al. Hepatocellular transplantation in children with fulminant liver failure. *Hepatology* 1997; 26: 239A.
7. Bilir B. M., Guinette D., Karrer F. et al. Hepatocyte transplantation in acute liver failure. *Liver Transplant.* 2000; 6 (1): 32—40.
8. Habibullah C. M., Syed I. H., Qamar A., Taher-Uz Z. Human fetal hepatocyte transplantation in patients with fulminant hepatic failure. *Transplantation* 1994; 27: 951—952.
9. Grossman M., Rader D. J., Muller D. W. et al. A pilot study of ex vivo gene therapy for homozygous familial hypercholesterolemia. *Nature Med.* 1995; 1: 1148—1154.
10. Bilir B. M., Durham J. D., Krystal J. et al. Transjuglar intra-portal transplantation of cryopreserved human hepatocytes in a patient with acute liver failure. *Hepatology* 1996; 24: 308a.
11. Fox I. J., Chowdhury J. R., Kaufman S. S. et al. Treatment of the Crigler-Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation. *N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 1422—1426.
12. Raper S. E., Grossman M., Rader D. J. et al. Safety and feasibility of liver — directed ex vivo gene therapy for homozygous familial hypercholesterolemia. *Ann. Surg.* 1996; 223: 116—126.
13. Ohashi K., Park F., Kay M. A. Hepatocyte transplantation: clinical and experimental application. *J. Mol. Med.* 2001; 79: 617—630.
14. Gupta S., Chowdhury R. J. Therapeutic potential of hepatocyte transplantation. *Cell Dev. Biol.* 2002; 13: 439—446.
15. Darwish A. A., Sokal D. E., Stephenne X. et al. Permanent access to the portal system for cellular transplantation using an implantable port device. *Liver Transplant.* 2004; 10 (9): 1213—1215.
16. Ambrosino G., Varotto S., Strom S. C. et al. Isolated hepatocyte transplantation for Crigler-Najjar syndrome type I. *Cell Transplant.* 2005; 14 (2—3): 151—157.
17. Sokal E. J., Smets F., Bourgois A. et al. Hepatocyte transplantation in a 4-year old girl with peroxisomal biogenesis disease: technique, safety, and metabolic follow-up. *Transplantation* 2003; 76: 735—738.
18. Mityr R. R., Dhawan A., Hughes R. D. et al. One liver, three recipients: segment IV from split-liver procedures as a source of hepatocytes for cell transplantation. *Transplantation* 2004; 77 (10): 1614—1616.
19. Mityr R. R., Dhawan A., Hughes R. D. et al. Hepatocyte transplantation for liver-based metabolic disorders. *J. Inherit. Metabol. Dis.* 2006; 29 (2—3): 431—435.
20. Horslen S. P., McCowan T. C., Goertzen T. C. et al. Isolated hepatocyte transplantation in an infant with a severe urea cycle disorder. *Pediatrics* 2003; 111 (6, Pt 1): 1262—1267.
21. Puppi J., Tan N., Mityr R. R. et al. Hepatocyte transplantation followed by auxiliary liver transplantation: a novel treatment for ornithin transcarbamylase deficiency. *Am. J. Transplant.* 2008; 8: 452—457.
22. Muraca M., Gerunda G., Neri D. et al. Hepatocyte transplantation as a treatment for glycogen storage disease type 1a. *Lancet* 2002; 359: 317—318.
23. Dhawan A., Mityr R. R., Hughes R. D. et al. Hepatocyte transplantation for inherited factor VII deficiency. *Transplantation* 2004; 78 (12): 1812—1814.
24. Grossman M., Raper S. E., Kozarsky K. et al. Successful ex-vivo gene therapy directed to liver in a patient with familial hypercholesterolemia. *Nature Genet.* 1994; 6: 335—341.
25. Thompson R., Strautnieks S. BSEP: function and role in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Semin. Liver Dis.* 2001; 21: 545—550.
26. Flohr T. R., Bonatti H. Jr, Brayman K. L., Pruett T. L. The use of stem cells in liver disease. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2009; 14: 64—71.
27. Baer H. U., Kaufman M., Kotalczyk A. et al. Wissenschaftlicher Bericht über Erfahrungen mit der Zucht von Lebergewebe in vitro und in vivo und die Anwendung von biotissues (HAC-tissues) zur Therapie von Lebererkrankungen. 2005. Electronic version.
28. Boudjema K. Disponibilit  en cellules humaines. In: Franco S., Boudjema K., Varet B., eds. *Ilots de Langergans et hepatocytes. Vers une utilisation therapeutique.* Paris: INSERM Editions; 1988. 137—146.
29. Strom S. C., Fisher R. A., Thompson M. T. et al. Human hepatocyte transplantation. In: Mito M., Sawa M., eds. *Hepatocyte transplantation now and then.* 1997. 325—341.
30. Sukhikh G. T., Shtil A. A. Stem cell transplantation for treatment of liver diseases: From biological foundations to clinical experience. (review). *Int. J. Mol. Med.* 2003; 11: 395—400.
31. Schumacher O. K., Okamoto T., Kim B. H. et al. Transplantation of conditionally immortalized hepatocytes to treat hepatic encephalopathy. *Hepatology* 1996; 24: 337—343.
32. Chowdhury J. R., Grossman M., Gupta S. et al. Long-term improvement of hypercholesterolemia after ex vivo gene therapy in LDLR-deficient rabbits. *Science* 1991; 54: 1802—1805.
33. Gunsalus J. R., Brady D. A., Coulter S. M. et al. Reduction of serum cholesterol in Watanabe rabbits by xenogenic hepatocellular transplantation. *Nature Med.* 1997; 3: 48—53.
34. Baccarani U., Adani G. L., Sanna A. et al. Portal vein thrombosis after intraportal hepatocytes transplantation in a liver transplant recipient. *Transplant. Int.* 2005; 18 (6): 750—754.
35. Shapiro A. M. J., Lakey J. R. T., Ryan E. A. et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 230—238.
36. Uyama S., Kaufmann P. M., Kneser U. et al. Hepatocyte transplantation using biodegradable matrices in ascorbic acid-deficient rats: comparison with heterotopically transplanted liver grafts. *Transplantation* 2001; 71 (10): 1—7.
37. Allen J. W., Bhatia S. N. Engineering liver therapies for the future. *Tissue Engng* 2002; 8 (5): 725—737.
38. Fox I. J., Chowdhury N. R., Gupta S. et al. Conditional immortalization of Gunn rat hepatocytes: an ex vivo model for evaluating methods for bilirubin-UDP-glucuronosyltransferase gene transfer. *Hepatology* 1995; 21: 837—846.
39. Cai J., Ito M., Westerman K. A. et al. Construction of a non-tumorigenic rat hepatocyte cell line for transplantation: Reversal of hepatocyte immortalization by site-specific excision of the SV40 T antigen. *J. Hepatol.* 2000; 33: 701.
40. Kobayashi N., Fujiwara T., Westerman K. A. et al. Prevention of acute liver failure in rats with reversibly immortalized human hepatocytes. *Science* 2000; 287: 1258—1262.
41. Kvittingen E. F., Rootwelt H., Berger R., Brandtzaeg P. Self-induced correction of the genetic defect in tyrosinemia type I. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 1657—1661.
42. Ohashi K., Tsutsumi M., Nakajima Y. et al. Telomere changes in human hepatocellular carcinomas and hepatitis virus infected non-cancerous livers. *Cancer* 1996; 77: 1747—1751.

Поступила 12.11.10