



МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ — ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

*Лазебник Л. Б., Голованова Е. В., Слупская В. А., Князев О. В.,
Гендриксон Л. Н., Хомерики С. Г., Гудкова Р. Б.*

ГУ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ, Москва

*Голованова Елена Владимировна
E-mail: golovanovaev@mail.ru*

РЕЗЮМЕ

В статье представлен аналитический обзор современной литературы, посвященной актуальности и перспективам применения мезенхимальных стромальных клеток (МСК) при хронических заболеваниях печени (ХЗП). Обсуждены вопросы возможных механизмов действия стволовых клеток. Представлены оригинальные результаты опыта применения МСК при циррозах печени (ЦП) различной этиологии. Показано, что системное применение стволовых клеток сопровождалось уменьшением клинико-биохимической активности заболевания, снижением уровней провоспалительных цитокинов, сывороточной концентрации трансформирующего фактора роста и проколлагена IV типа. Противовоспалительное и антифибротическое действие МСК подтверждено морфологическим исследованием ткани печени в динамике.

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки, клеточная терапия, хронические заболевания печени, цирроз печени, цитокины, маркеры фиброза.

SUMMARY

The paper presents an analytical review of recent literature on the relevance and perspectives of using mesenchymal stromal cells (MSCs) in chronic liver disease (CLD). The possible mechanisms of action of stem cells and the results of the original experience of the MSC application in liver cirrhosis of different etiologies are described. Systemic application of stem cells was accompanied by decreasing of clinical and biochemical disease activity, of levels of proinflammatory cytokines, the concentrations of transforming growth factor and procollagen type IV in serum. Anti-inflammatory and antifibrotic effect of MSC is confirmed by morphological examination of liver tissue over time.

Keywords: Mesenchymal stromal cells, cell therapy, chronic liver disease, cirrhosis of the liver, cytokines, markers of fibrosis.

ВВЕДЕНИЕ

Печень — орган, обладающий уникальной регенераторной активностью. Гепатоциты могут осуществлять несколько делений для восстановления печеночной массы. Однако, при хронических заболеваниях печени репаративная способность гепатоцитов утрачивается. Прогрессирующая печеночно-клеточная недостаточность является показанием

для направления больного на трансплантацию печени. Однако, лишь части нуждающихся осуществляется трансплантация, так как имеется дефицит донорских органов. Кроме того, не всякое оперативное вмешательство бывает успешным, имеются определенные риски, такие как: опасность отторжения трансплантата, инфекционные

осложнения, рецидивы ХЗП (например, хронической вирусной инфекции) [14, 36]. В связи с этим, поиск альтернативных стратегий для лечения ХЗП является актуальной проблемой гепатологии [8]. Одним из методов лечения ХЗП на терминальных стадиях является трансплантация мезенхимальных стромальных клеток.

Мезенхимальные стромальные клетки костного мозга представляют собой мультипотентные клетки, способные к дифференцировке в различные типы тканей мезенхимального происхождения, а также в клетки других зародышевых слоев [5, 6]. МСК были впервые описаны Friedenstein в начале 1990-х годов как начальное звено линии фибробластов. С точки зрения клинического применения, МСК — это перспективный инструмент для создания нового способа эффективного лечения ХЗП благодаря наличию у этой популяции клеток многообразных биологических свойств: способности дифференцироваться в функциональные клетки печени, продуцировать множество биоактивных компонентов (например, противовоспалительных цитокинов), подавлять апоптоз, регулировать процессы фиброгенеза. Эти клетки обладают умеренной способностью к самоподдержанию и дифференцировке, при этом их получение не требует больших затрат. Несомненным плюсом в пользу применения этой технологии в клинической практике является то, что МСК обладают высокой биосовместимостью, что не требует проведения одновременной иммуносупрессии [19].

МСК способны продуцировать такие цитокины, как фактор роста гепатоцитов (HGF), эпидермальный фактор роста, интерлейкин (IL) 6 и фактор некроза опухоли- α (FNO- α), которые, в свою очередь, опосредованно стимулируют пролиферацию клеток печени и поддерживают синтетическую функцию гепатоцитов, о чем свидетельствует высокий уровень альбумина и мочевины в эксперименте после трансплантации МСК [13]. Кроме этого, МСК экспрессируют элементы комплекса гистосовместимости (HLA) класса I (но не класса II, что делает возможным как аутологичную, так и аллогенную трансплантацию этих клеток) и некоторые компоненты внеклеточного матрикса: коллаген, фибронектин, ламинин, протеогликаны.

Анализ профиля экспрессии генов показал, что МСК имеют несколько генов, участвующих в основных механизмах биологической регуляции: эмбриогенезе, органогенезе, формировании сигналов клеточной адгезии, стрессовой реакции, регуляции транскрипции. Имеются данные, что ключевую роль в определении судьбы дифференцировки МСК играет KLF4 [26].

Таким образом, предположительное действие МСК в качестве терапевтического агента основано на механизмах иммунорегуляции и трансдифференцировки.

В течение последнего десятилетия широко продемонстрирована высокая степень пластичности МСК [7, 21, 25, 32]. В частности, *in vitro*, на питательной

среде с добавлением коктейля из факторов роста была неоднократно успешно стимулирована трансдифференцировка МСК в клетки печени со специфическими функциональными свойствами: способностью синтезировать альбумин, мочевины, гликоген [33]. Кроме того, трансдифференцировка МСК в клетки печени была описана у крысы [28], мыши [34] и человека [2].

В исследованиях показано, что МСК оказывают значительное воздействие на клеточное звено иммунной системы — моноциты, дендритные клетки (ДК), макрофаги и нейтрофилы. Механизмы, с помощью которых МСК оказывают свое тормозящее влияние на созревание ДК, по-прежнему плохо определены. Spaggiari S. M. et al. показали *in vitro*, что замедление перехода моноцитов в незрелые ДК под влиянием МСК на ранних стадиях обусловлено стимуляцией интерлейкина-4 (IL-4) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF). Другие авторы представили убедительные доказательства влияния МСК на синтез простагландина E2 (PGE2) [29], играющего ведущую роль в функционировании гуморального звена иммунной системы. В исследованиях также показано, что МСК обладают тормозящим действием на функцию натуральных киллеров (NK), подавляя IL-2-индуцированную пролиферацию клеток, их цитотоксическую функцию и продукцию провоспалительных цитокинов. Кроме этого, МСК возможно препятствуют синтезу растворимых факторов (в том числе indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) и PGE2) NK-клетками [30]. Наконец, *in vitro* МСК подавляют апоптоз, экспрессию молекул адгезии и миграционную способность нейтрофилов. Имеется мнение, что выделение цитокинов паренхиматозными клетками печени является своеобразным показателем пролиферации и дифференцировки гепатоцитов и в клинико-биологической практике может быть использовано в качестве критерия эффективности клеточной терапии [11]. Эти результаты согласуются с гипотезой о том, что МСК защищают клеточные элементы от апоптоза, сохраняя свои эффекторные функции. Кроме того, МСК уменьшают интенсивность оксидативного стресса, предотвращая чрезмерную или необоснованную активацию окислительного метаболизма, являющуюся одним из важных звеньев патогенеза ХЗП [11].

Терапевтические эффекты МСК зависят от их потенциальной способности мигрировать к очагу поврежденной ткани при парентеральном введении. Это предполагает их способность мигрировать через слой эндотелиальных клеток в ишемизированные участки органа и сохраняться именно в поврежденной ткани [24]. Таким образом, увеличение концентрации воспалительных хемокинов в месте воспаления является ключевым медиатором транспортировки МСК в место повреждения [16]. Многие интегрины, селектины и рецепторы хемокинов участвуют в связывании, адгезии и миграции лейкоцитов. В частности, E- и P-селектин, CD44,



и VCAM-1, которые принимают участие в адгезии лейкоцитов, также играют важную роль в адгезии МСК на эндотелий [23, 27, 31].

Обоснованием того, что именно МСК выбраны для лечения хронических заболеваний печени, сопровождающихся нарушением ее архитектоники и фиброзированием, послужили экспериментальные и клинические исследования. Их результаты показали потенциал этой клеточной популяции для осуществления регрессии фиброза путем ингибирования отложения коллагена и регуляции синтеза трансформирующего фактора роста- $\beta 1$ [4, 18, 35]. Молекулярный механизм, лежащий в основе антифибротического действия МСК, связывают преимущественно с высоким уровнем экспрессии матричной металлопротеиназы (ММП), особенно ММП-9, которая может прямо влиять на механизмы резорбции коллагена [10, 22]

По настоящее время дискуссионными остаются вопросы безопасности применения МСК, связанные с риском их онкотрансформации вследствие длительного воздействия данных клеток на иммунную систему и, как следствие, подавления противоопухолевого иммунитета. Кроме того, обсуждаются вопросы активации роста опухолей соединительнотканного происхождения после применения МСК [3, 12, 17]. Однако, в противовес этому мнению, имеются результаты исследований, свидетельствующих о противоопухолевом действии МСК, обусловленном иммуномодуляцией и коррекцией проонкогенной воспалительной среды, а также экспрессией генов, снижающих пролиферацию атипичных клеток [1, 9, 20]. Ученые из Великобритании доказали преимущество использования клеточного материала от молодых доноров. В этом случае более высока способность к трансдифференцировке, и снижен риск онкогенеза вследствие мутаций [37].

В экспериментальных работах российских авторов в последние годы установлено, что для коррекции фиброзирующих изменений в печени желательно применять культивированные аллогенные МСК костного мозга здоровых доноров, которые обладают высокой пролиферативной и регуляторной активностью. Действие МСК на начальных этапах развития хронического фиброзирующего повреждения печени характеризуется первичным усилением процессов фиброирования и последующей резорбцией соединительной ткани. Таким образом, двухфазное развитие фибролитического эффекта МСК при ХЗП сопровождается на первом этапе повышением экспрессии маркеров активации звездчатых клеток (десмина и α -ГМА), маркеров апоптоза (каспазы-3), клеточной пролиферации (PCNA) и пролиферации гепатоцитов (АПФ), которое на втором этапе сменяется выраженным снижением этих показателей [15].

Таким образом, очевидно, что применение МСК является перспективным направлением в терапии ХЗП ввиду высокой пластичности и выраженных иммуномодулирующих свойств данной клеточной

популяции. С целью определения и глубокого понимания потенциальной выгоды и риска применения данного метода в клинической практике необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Целью нашего исследования явилось изучение эффективности и безопасности трансплантации МСК больным с циррозами печени различной этиологии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 12 больных циррозами печени различной этиологии, средний возраст составил $49 \pm 10,2$ лет. На основании анамнеза, данных физикального, лабораторного и инструментального обследования в 6 случаях был установлен первичный билиарный цирроз (ПБЦ), в том числе в 2 случаях — синдром перекреста с аутоиммунным гепатитом, у 6 больных — алкогольная болезнь печени (АБП) на стадии цирроза печени. Тяжесть цирроза печени по шкале Чайлд-Пью во всех случаях не превышала класса В.

Больным дважды была проведена системная трансплантация стволовых клеток (аллогенные МСК в количестве 200–250 млн., взвешенные в 200 мл. стерильного физиологического раствора, содержащего гепарин в концентрации 50 ед/мл) с интервалом между введениями не более 10 дней. Все трансплантации были проведены после премедикации системными глюкокортикостероидами в дозе 60 мг внутривенно. Аллергических реакций как немедленного типа, так и отсроченных, отмечено не было. Дата введения препарата являлась отправной точкой исследования.

Динамику клинических проявлений заболевания оценивали по 3-балльной шкале: 0 баллов — отсутствие симптома, 1 балл — симптом незначительно выражен, 2 балла — симптом выражен умеренно, 3 балла — симптом выражен интенсивно.

Исходно, через 6 и 12 месяцев после трансплантации МСК всем больным проводилось лабораторное обследование: общеклинический и биохимический анализы крови (уровни аспаргиновой (АСТ) и аланиновой трансаминаз (АЛТ), билирубина, γ -глутамил-транспептидазы (ГГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), альбумина, общего белка, холестерина, мочевины, креатинина, электролитов, протромбинового индекса). Кроме этого, методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли динамику концентраций провоспалительных (IL-1 β , IL-6, FNO- α) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов, трансформирующего фактора роста (TGF 1β), сывороточных маркеров фиброза (коллаген IV типа, аргиназа, гиалуроновая кислота).

С целью оценки размеров печени и селезенки, структурных изменений паренхимы органов, наличия и степени выраженности портальной

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ МСК НА ДИНАМИКУ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ (В БАЛЛАХ) У БОЛЬНЫХ С ЦП РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ (N = 12)			
Клинический симптом	Исходно	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
Утомляемость	1,07 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,3 ± 0,1
Тяжесть в правом подреберье	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,8	0,7 ± 0,2
Кожный зуд	0,71 ± 0,1	0,3 ± 0,1*	0,1 ± 0,01*

* $p = 0,04$ — достоверное отличие от исходного показателя.

Таблица 2

ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ БИОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК У БОЛЬНЫХ ЦП РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ (N = 12)			
Лабораторный показатель	Исходно	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
АСТ (ед/л)	79,1 ± 34,2	92,2 ± 34,7	64,1 ± 21,5
АЛТ (ед/л)	78,6 ± 31,4	73,3 ± 33,3	61,1 ± 20,3
ЩФ (ед/л)	277,7 ± 140,8	227,9 ± 69,3*	141,4 ± 60,7*
ГГТП (ед/л)	277,8 ± 149	186,8 ± 82,4*	195,9 ± 61,2*
Общий билирубин (мкмоль/л)	29,8 ± 12,2	25 ± 11,7	24,1 ± 9,5
Прямой билирубин (мкмоль/л)	6,9 ± 1,8	4 ± 1,3	5,1 ± 2,3

* $p < 0,05$ — достоверное отличие от исходного показателя.

Таблица 3

ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВО-СИНТЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК У БОЛЬНЫХ С ЦП РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ (N = 12)			
Лабораторный показатель	Исходно	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
Протромбиновый индекс (%)	87,6 ± 17,7	85,2 ± 13,8	82,7 ± 13,3
Холестерин (мкмоль/л)	6,3 ± 2,5	5,62 ± 1,6	6,0 ± 1,1
Общий белок (г/л)	77,4 ± 6,8	74,8 ± 6,4	74,1 ± 4,1
Альбумин (г/л)	38,2 ± 4,8	40,5 ± 3,8	40,2 ± 5,4*

* $p = 0,06$ — достоверное отличие от исходного показателя.

Таблица 4

ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ ПОРТАЛЬНОГО КРОВОТОКА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК У БОЛЬНЫХ С ЦП РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ (N = 12)			
Параметр	Исходно	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
Диаметр воротной вены (мм)	11,7 ± 2,7	11,6 ± 3,04	11,9 ± 3,04
Диаметр селезеночной вены (мм)	7,3 ± 2	7,6 ± 2,5	7,5 ± 3,04
Портовонозный градиент давления (ПВГД)	23,7 ± 14,2	22,8 ± 16,1	24,5 ± 7,01
Спленопортальный индекс (СПИ)	0,77 ± 0,4	0,69 ± 0,4	0,49 ± 0,2



гипертензии и фиброза исходно, через 6 и 12 месяцев после трансплантации МСК проводилось ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, ультразвуковая доплерография (УЗДГ), непрямая ультразвуковая фиброэластометрия печени с оценкой степени фиброза в кПа по шкале METAVIR. Исходно и через 12 месяцев 7 больным проведена пункционная биопсия печени.

Для оценки отдаленной безопасности и возможного проонкогенного действия МСК определяли динамику онкомаркеров (СА 19-9, СА 125, РЭА, альфафетопротеин).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уже через полгода после трансплантации МСК больные субъективно отмечали улучшение самочувствия в виде снижения выраженности клинических проявлений: утомляемости, тяжести в правом подреберье, кожного зуда. Через 12 месяцев наблюдения положительная динамика сохранялась (табл. 1), при этом интенсивность кожного зуда у больных ПБЦ снизилась достоверно.

При анализе параметров общеклинического анализа крови в течение года наблюдения не отмечено существенных изменений концентраций гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов ($p > 0,05$).

Динамика биохимических показателей в процессе наблюдения представлена в табл. 2. Через 12 месяцев выявлено снижение активности трансаминаз, тенденция к снижению уровня общего билирубина, в том числе за счет прямой фракции. Через 6 и 12 месяцев наблюдения обнаружилось достоверное снижение уровней ЩФ и ГГТП, что свидетельствует об уменьшении степени внутрипеченочного холестаза преимущественно у больных с ПБЦ.

При анализе лабораторных показателей, характеризующих белково-синтетическую функцию печени, существенных изменений не выявлено (табл. 3), однако наблюдалось достоверное повышение уровня альбумина через год наблюдения.

В среднем по группе степень тяжести цирроза печени, определяемая по шкале Чайлд-Пью, через 12 месяцев наблюдения имела тенденцию к снижению с $5,16 \pm 0,6$ до $5,0 \pm 0,8$ баллов ($p > 0,05$).

При УЗИ органов брюшной полости в период наблюдения 12 месяцев после трансплантации МСК не выявлено существенной динамики размеров печени и селезенки ($p > 0,05$). Однако по данным УЗДГ, на фоне отсутствия существенных изменений диаметров воротной и селезеночной вен получено отчетливое снижение спленопортального индекса ($p > 0,05$), что указывает на снижение выраженности портальной гипертензии (табл. 4).

При исследовании степени фиброза печени методом непрямой ультразвуковой фиброэластометрии существенной динамики через год наблюдения выявлено не было ($29,7 \pm 12,8$ и $31,3 \pm 13,7$ кПа соответственно, $p > 0,05$), стадия фиброза не менялась.

Противовоспалительный эффект применения МСК был подтвержден в нашей работе выраженным снижением уровней провоспалительных цитокинов через полгода после терапии: FNO- α — с $223,4 \pm 68,8$ пг/мл до $73,4 \pm 33,9$ пг/мл ($p < 0,05$), ИЛ 1b — с $140,2 \pm 30,1$ пг/мл до $132,2 \pm 31,1$ пг/мл ($p > 0,05$). Выявлено также отчетливое снижение уровня трансформирующего фактора роста, способствующего пролиферации гепатоцитов и являющегося косвенным показателем усиленного коллагенообразования. Разница между уровнями TG1 β через полгода наблюдения ($231,1 \pm 159,6$ пг/мл) и год ($135,6 \pm 88,12$ пг/мл) была достоверной ($p < 0,05$).

Одним из важных аспектов контроля эффективности терапии МСК в нашей работе являлось определение сывороточных концентраций маркеров фиброза в динамике. При исследовании таких показателей как гиалуроновая кислота и аргиназа, положительной динамики выявлено не было. Однако при определении концентрации в крови коллагена IV типа через 12 месяцев после двукратной системной трансплантации МСК выявлено достоверное его снижение с $608,2 \pm 353,2$ мкг/л до $363,8 \pm 214,4$ мкг/л ($p < 0,05$).

В целях изучения безопасности применения МСК всем больным исходно и через 6 месяцев были исследованы некоторые онкомаркеры сыворотки крови, при этом роста их уровней не выявлено. Не отмечено также ни одного случая превышения верхней границы нормы исследуемых показателей (табл. 5).

Для выявления возможных закономерностей эффективности МСК при определенных нозологических формах ХЗП были проанализированы результаты лечения в зависимости от этиологического фактора.

Из табл. 6 видно, что наиболее выраженная положительная динамика лабораторных и инструментальных данных (снижение уровней ГГТП, АСТ, уменьшение размеров левой доли печени, $p > 0,05$) наблюдалась преимущественно в группе больных АБП и отчасти, вероятно, была обусловлена отказом от приема алкоголя. У больных ПБЦ наблюдалось преимущественное снижение уровня ЩФ ($p > 0,05$).

Через год после трансплантации МСК семи больным проведена пункционная биопсия печени, проанализирована динамика морфологических изменений. В шести случаях наблюдали положительную динамику в отношении активности воспаления — индекс гистологической активности (ИГА) снизился, в одном случае — ИГА не изменился. Индекс фиброза (ИФ) у 2 больных уменьшился, у 4 больных не изменился, а у 1 больной увеличился с F2 до F3 по шкале Metavir. В среднем по общей группе больных ИГА исходно составлял $1,7 \pm 0,3$ баллов, через год после трансплантации МСК снизился до $1,0 \pm 0,4$ баллов ($p > 0,05$), ИФ снизился с $3,3 \pm 0,8$

Таблица 5

ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИЙ ОНКОМАРКЕРОВ В ПЕРИОД НАБЛЮДЕНИЯ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК У БОЛЬНЫХ С ЦП РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ (N = 12)		
Показатель	Исходно	Через 6 месяцев
АФП (норма до 14 МЕ/мл)	7,01 ± 2,14	6,7 ± 2,02
РЭА (норма до 30 мкг/мл)	1,3 ± 0,03	1,01 ± 0,2
СА 19-9 (норма до 37 ед/мл)	12,7 ± 7,3	13,7 ± 5,6

Таблица 6

ДИНАМИКА ЛАБОРАТОРНЫХ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ У БОЛЬНЫХ С ЦП РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ (N = 12) ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭТИОЛОГИИ ХЗП					
Показатель	ХЗП	ПБЦ (n = 6)		АБП (n = 6)	
		исходно	через 12 месяцев	исходно	через 12 месяцев
АСТ (ед/л)		37,8 ± 16,6	35,4 ± 15,6	79,8 ± 32,1	64,9 ± 11,9
ГГТП (ед/л)		158,8 ± 74,9	143,4 ± 70,1	254,5 ± 111,2	198,7 ± 99,8
ЩФ (ед/л)		232,1 ± 113,5	197,3 ± 98,8	112,2 ± 32,3	119,3 ± 34,8
Косовертикальный размер (КВР) правой доли печени (см)		15,9 ± 2,7	15,6 ± 3,1	16,1 ± 3,1	15,8 ± 2,8
Толщина левой доли печени (см)		6,9 ± 2,5	6,8 ± 2,3	8,1 ± 2,04	6,8 ± 2,1

баллов до $3,1 \pm 1,2$ ($p > 0,05$). Снижение ИГА отмечено как у больных ПБЦ ($1,8 \pm 0,6$ и $0,8 \pm 0,2$ баллов соответственно, $p > 0,05$), так и у больных АБП ($1,6 \pm 0,8$ и $1,0 \pm 0,5$ баллов соответственно, $p > 0,05$). Следует отметить, что ни в одном из наблюдаемых случаев за период наблюдения 12 месяцев не отмечено повышения ИГА, что свидетельствует о положительном влиянии МСК на некро-воспалительные изменения в печени, и подтверждается синхронным снижением провоспалительных цитокинов. Индекс фиброза в среднем снизился только у больных с алкогольной этиологией заболевания ($3,7 \pm 1,6$ и $3,1 \pm 1,0$ баллов соответственно, $p > 0,05$).

С целью демонстрации клинических случаев успешной терапии МСК представляем результаты морфологического исследования гепатобиоптатов больных ПБЦ и алкогольной болезнью печени, принимавших участие в нашем исследовании (рис. 1–4 на цветной вклейке).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о положительном влиянии трансплантации МСК на течение ХЗП различной этиологии. После введения МСК наблюдается снижение воспаления в паренхиме печени, что подтверждается не только снижением клинико-биохимической активности, но и снижением провоспалительных цитокинов. Снижение трансформирующего фактора роста и уровня коллагена IV типа косвенным образом указывает на снижение процессов коллагенообразования. Применение МСК не сопровождалось побочными эффектами, через 12 месяцев не наблюдалось проонкогенного действия биологической терапии. Для разработки наиболее эффективных схем лечения и определения предикторов эффективности клеточной терапии необходимы дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abdel Aziz M. T., El Asmar M. F., Atta H. M. et al. Efficacy of mesenchymal stem cells in suppression of hepatocarcinogenesis in rats: possible role of Wnt signaling // Journal of Experimental and Clinical Cancer Research. — 2011. — 30 (1) — P. 49.
2. Alison M. R., Poulson R., Jeffery R. et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells // Nature. — 2000. — 406 (6793). — P. 257.
3. Al-Khalidi A., Eliopoulos N., Martineau D., Lejeune L., Lachapelle K., Galipeau J. Postnatal bone marrow stromal cells elicit a potent VEGF-dependent neoangiogenic response in vivo // Gene Therapy. — 2003. — 10 (8):621–629.
4. Banas A., Teratani T., Yamamoto Y. et al. IFATS collection: in vivo therapeutic potential of human adipose tissue mesenchymal stem cells after transplantation into mice with liver injury // Stem Cells. — 2008. — 26 (10):2705–2712.
5. Banas A., Teratani T., Yamamoto Y. et al. Rapid hepatic fate specification of adipose-derived stem cells and their therapeutic potential for liver failure // Journal of Gastroenterology and Hepatology. — 2009. — 24 (1):70–77.
6. Cho K. A., Ju S. Y., Cho S. J. et al. Mesenchymal stem cells showed the highest potential for the regeneration of injured liver tissue compared with other subpopulations of the bone marrow // Cell Biology International. — 2009. — 33 (7):772–777.



7. Deng W., Han Q., Liao L. et al. Allogeneic bone marrow-derived flk-1+Sca-1-mesenchymal stem cells leads to stable mixed chimerism and donor-specific tolerance // *Experimental Hematology*. — 2004. — 32 (9):861–867.
8. Forbes S. J. Stem cell therapy for chronic liver disease-choosing the right tools for the job // *Gut*. — 2008. — 57 (2):153–155.
9. Gao P., Ding Q., Wu Z., Jiang H., Fang Z. Therapeutic potential of human mesenchymal stem cells producing IL-12 in a mouse xenograft model of renal cell carcinoma // *Cancer Letters*. — 2010. — 290 (2):157–166.
10. Higashiyama R., Inagaki Y., Hong Y. Y. et al. Bone marrow-derived cells express matrix metalloproteinases and contribute to regression of liver fibrosis in mice // *Hepatology*. — 2007. — 45 (1):213–222.
11. Kung J. W., Currie I. S. et al. Non-parenchymal cells regulate proliferation and differentiation of human liver progenitor cells // *Journal of Hepatology*. The international Liver congress. — 2012. — abstract book., S. 420, 167.
12. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M. S. et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms // *Circulation Research*. — 2004. — 94 (5):678–685.
13. Kiss J., Urbán S. V., Dudics V., Vas V., Uher F. Mesenchymal stem cells and the immune system-immunosuppression without drugs // *Orvosi Hetilap*. — 2008. — 149 (8):339–346.
14. Kisseleva T., Gigante E., Brenner D. A. Recent advances in liver stem cell therapy // *Current Opinion in Gastroenterology*. — 2010. — 26 (4):395–402.
15. Lazebnik L., Onishchenko N. A., Lyundup A. V., Trubitsyna I. E., Knyazev O. V., Deev R. V., Krashennnikov M. E., Shagidulin M. Y. Regeneration of toxic damaged liver in rats after introduction of mesenchymal stromal bone marrow cells // 6th Central European gastroenterology meeting. Book of Abstracts. — 2010. — P 36.
16. Ley K., Laudanna C., Cybulsky M. I., Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated // *Nature Reviews Immunology*. — 2007. — 7 (9):678–689.
17. Mishra P. J., Mishra P. J., Humeniuk R. et al. Carcinoma-associated fibroblast-like differentiation of human mesenchymal stem cells // *Cancer Research*. — 2008. — 68 (11):4331–4339.
18. Mohamadnejad M., Alimoghaddam K., Mohyeddin-Bonab M. et al. Phase 1 trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis // *Archives of Iranian Medicine*. — 2007. — 10 (4):459–466.
19. Muraca M. Evolving concepts in cell therapy of liver disease and current clinical perspectives // *Digestive and Liver Disease*. — 2011. — 43 (3):180–187.
20. Nakamizo A., Marini F., Amano T. et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas // *Cancer Research*. — 2005. — 65 (8):3307–3318.
21. Ortiz L. A., Gambelli F., McBride C. et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2003. — 100 (14):8407–8411.
22. Parekkadan B., van Poll D., Megeed Z. et al. Immunomodulation of activated hepatic stellate cells by mesenchymal stem cells // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. — 2007. — 363 (2):247–252.
23. Rüster B., Göttig S., Ludwig R. J. et al. Mesenchymal stem cells display coordinated rolling and adhesion behavior on endothelial cells // *Blood*. — 2006. — 108 (12):3938–3944.
24. Salem H. K., Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status // *Stem Cells*. — 2010. — 28 (3):585–596.
25. Sanchez-Ramos J., Song S., Cardozo-Pelaez F. et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro // *Experimental Neurology*. — 2000. — 164 (2):247–256.
26. Saulnier N., Puglisi M. A., Lattanzi W. et al. Gene profiling of bone marrow- and adipose tissue-derived stromal cells: a key role of Kruppel-like factor 4 in cell fate regulation // *Cytotherapy*. — 2011. — 13 (3):329–340.
27. Schweitzer K. M., Dräger A. M., Van Der Valk P. et al. Constitutive expression of E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 on endothelial cells of hematopoietic tissues // *American Journal of Pathology*. — 1996. — 148 (1):165–175.
28. Shu S. N., Wei L., Wang J. H., Zhan Y. T., Chen H. S., Wang Y. Hepatic differentiation capability of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells // *World Journal of Gastroenterology*. — 2004. — 10 (19):2818–2822.
29. Spaggiari G. M., Abdelrazik H., Becchetti F., Moretta L. MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2 // *Blood*. — 2009. — 113 (26):6576–6583.
30. Spaggiari G. M., Capobianco A., Abdelrazik H., Becchetti F., Mingari M. C., Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2 // *Blood*. — 2008. — 111 (3):1327–1333.
31. Spring H., Schüller T., Arnold B., Hämmerling G. J., Ganss R. Chemokines direct endothelial progenitors into tumor neovessels // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2005. — 102 (50):18111–18116.
32. Sugaya K. Potential use of stem cells in neuroreplacement therapies for neurodegenerative diseases // *International Review of Cytology*. — 2003. — 228:1–30.
33. Taléns-Visconti R., Bonora A., Jover R. et al. Hepatogenic differentiation of human mesenchymal stem cells from adipose tissue in comparison with bone marrow mesenchymal stem cells // *World Journal of Gastroenterology*. — 2006. — 12 (36):5834–5845.
34. Theise N. D., Badve S., Saxena R. et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation // *Hepatology*. — 2000. — 31 (1):235–240.
35. Tsai P. C., Fu T. W., Chen Y. M. A. et al. The therapeutic potential of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly in the treatment of rat liver fibrosis // *Liver Transplantation*. — 2009. — 15 (5):484–495.
36. Wu Y. M., Joseph B., Berishvili E., Kumaran V., Gupta S. Hepatocyte transplantation and drug-induced perturbations in liver cell compartments // *Hepatology*. — 2008. — 47 (1):279–287.
37. Jan X., Ehnert S., Martinez Sanchez J. J., Damm G. et al. Chemical modification epigenetically renews old human adipose derived mesenchymal stem cells and improves their differentiation into hepatocytes lineage // *Journal of Hepatology*. The international Liver congress. — 2012. — abstract book.. — 436, S. 173.

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ — ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

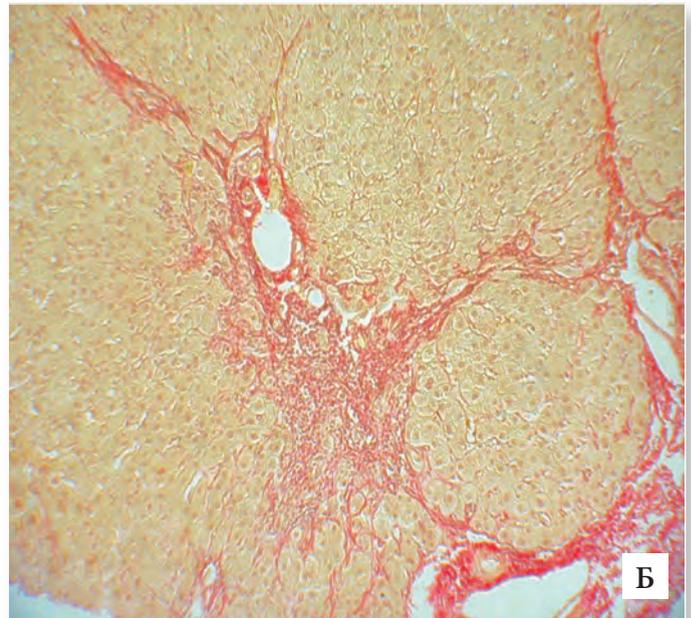
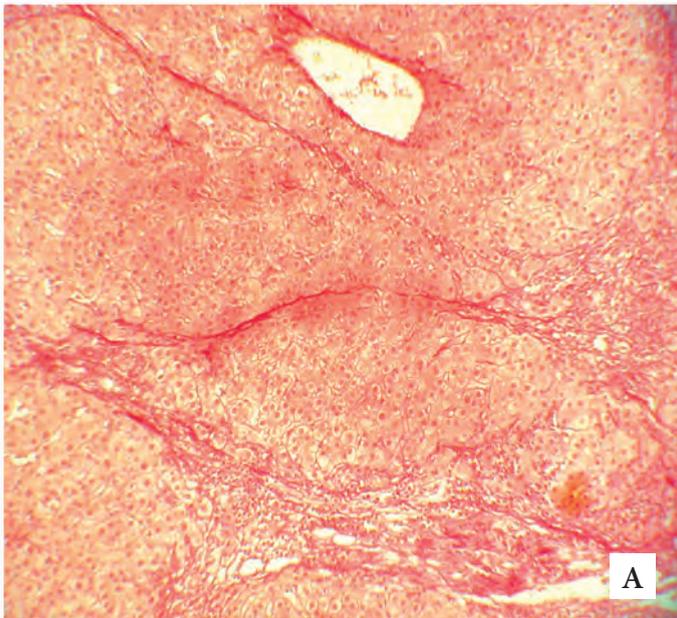


Рис 1. Гистологическая картина ткани печени больной А до (а) и после (б) лечения. Первичный билиарный цирроз.
а) Воспалительная инфильтрация портальных трактов и тонкие порто-портальные септы до введения МСК.
б) Участки резорбции коллагеновых волокон в соединительнотканых септах через 12 месяцев после введения МСК.

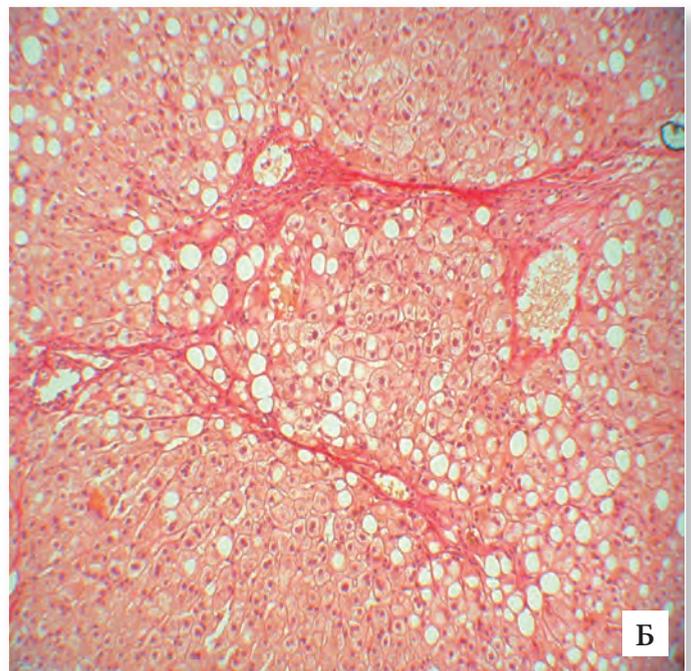
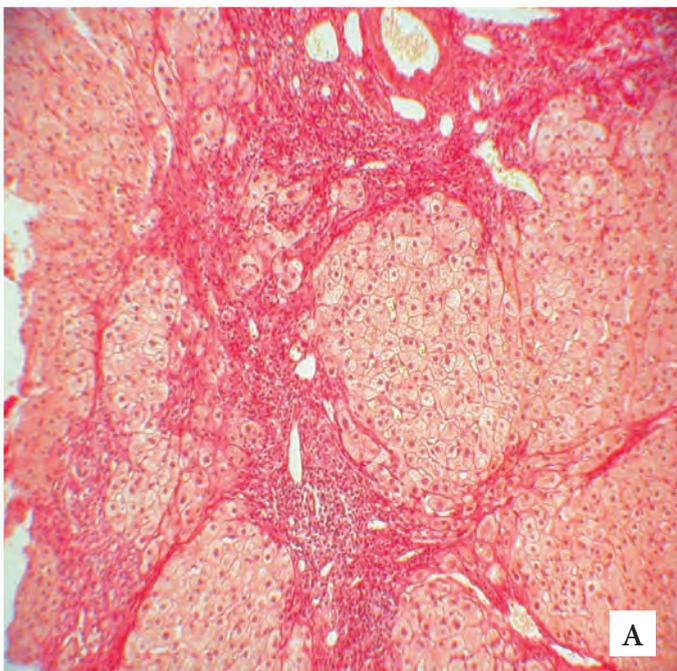


Рис 2. Гистологическая картина ткани печени больной В до (а) и после (б) лечения. Первичный билиарный цирроз.
а) Выраженный активный фиброз (F-3) портальных трактов с формированием ложных долек и участками перигепатоцеллюлярного фиброза до введения МСК.
б) Участки резорбции коллагеновых волокон в соединительнотканых септах через 12 месяцев после введения МСК.

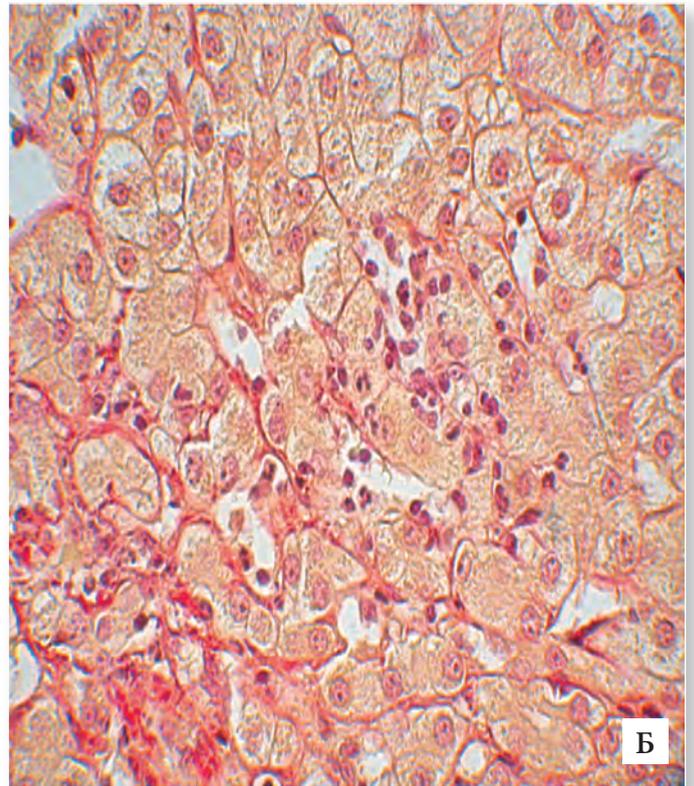
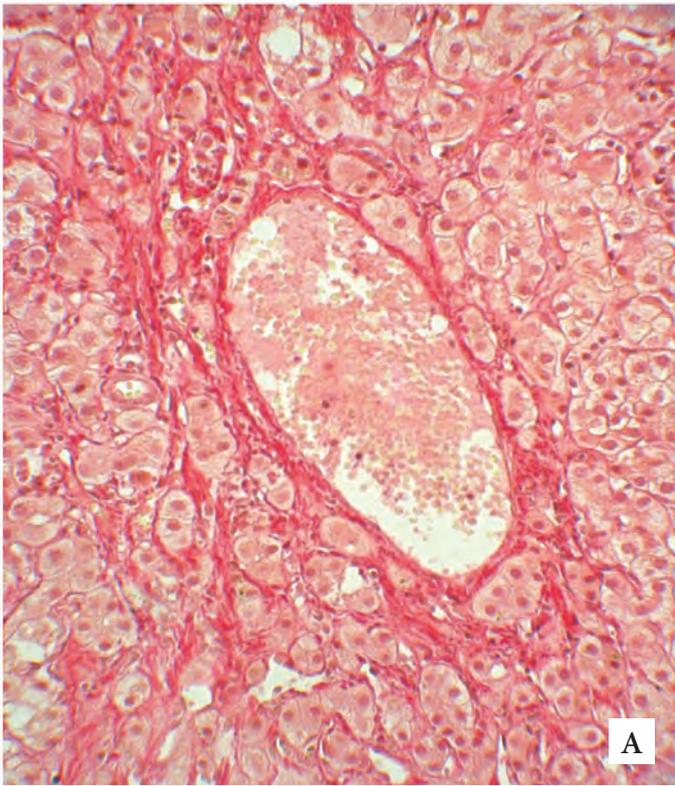


Рис 3. Гистологическая картина ткани печени больной Г до (а) и после (б) лечения. Алкогольная болезнь печени на стадии цирроза.
 а) Внутридольковые нейтрофильноклеточные инфильтраты и фиброз центральной вены.
 б) Резорбция коллагеновых волокон нейтрофилами и лимфоцитами спустя 12 месяцев после терапии МСК.

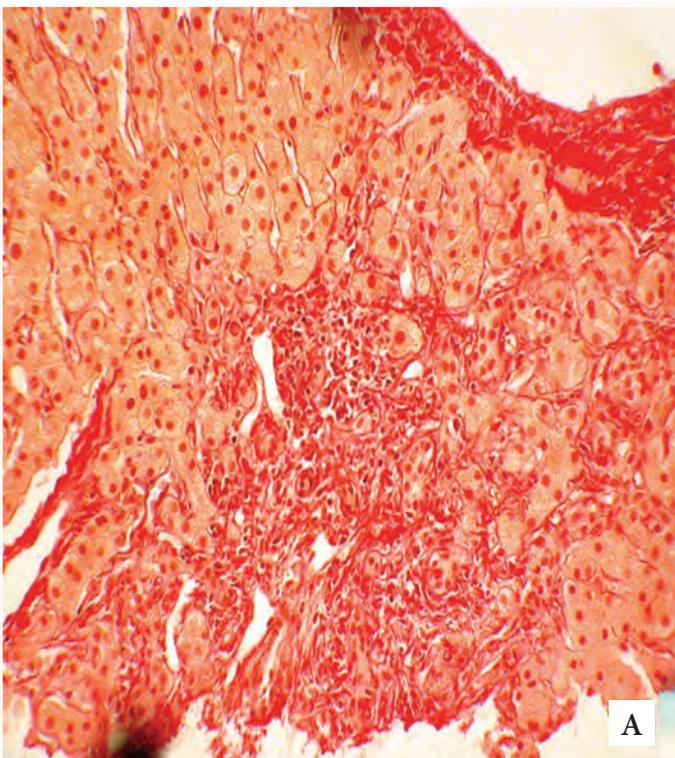


Рис 4. Гистологическая картина ткани печени больной Г до (а) и после (б) лечения.
 а) индекс гистологической активности А3, индекс фиброза F4 по METAVIR.
 б) индекс гистологической активности А2, индекс фиброза F3 по METAVIR.