

Экстракорпоральная гемокоррекция в лечении печеночной недостаточности

И.В. Александрова

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

Extracorporeal hemocorrection in the treatment of liver failure

I.V. Aleksandrova

N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow

As of now, clinical stabilization during the time required for the spontaneous regeneration of the liver or its orthotopic transplantation is the optimum treatment strategy. The use of artificial hepatic function support systems reduces mortality in severe hepatic failure from 85 to 60%. According to the used technologies, these systems can be divided into biological, non-biological (artificial or cell-free technologies), bioartificial or hybrid devices. The positive and negative aspects of these technologies are shown in this review.

Key words: hepatic failure, replacement therapy, hepatic function support system, MARS, Prometheus.

Летальность при тяжелой печеночной недостаточности (ПН) до настоящего времени не снижается менее 60%. Основной стратегией лечения пациентов с различными формами печеночной недостаточности остается стабилизация клинического состояния на время, необходимое для спонтанной регенерации органа и, следовательно, выздоровления пациента либо проведения ортотопической трансплантации печени (ОТП). Операция трансплантации печени значительно улучшает результаты выживаемости больных с тяжелой ПН, но недостаток донорских органов заметно тормозит активное внедрение этой медицинской процедуры. В среднем 30% пациентов с острой ПН, ожидающих ОТП по экстренным показаниям, до операции не доживают. Часть пациентов имеют противопоказания к проведению ОТП, включающие полиорганную дисфункцию, пожилой возраст, злоупотребление алкоголем, употребление наркотиков и др. В подобных случаях используются искусственные системы поддержки функции печени, применение которых позволило снизить летальность с 85 до 60% [1].

Повреждение гепатоцитов при развитии ПН зависит от типа, продолжительности и тяжести воздействия токсического агента, гибели клеток от некроза, апоптоза или того и другого [2, 3]. Нарушения в них приводят к накоплению различных токсических субстанций, например аммиака, медиаторов оксидативного стресса, желчных кислот, оксида азота, лактата, продуктов метаболизма арахидоновой кислоты, эндогенных бензодиазепинов, индолов, меркаптанов, воспалительных цитокинов и др. [4–8]. В результате развиваются системные поражения иммунологического статуса, гемодинамики, полиорганная дисфункция. В дополнение имеет место и вторичное поражение печени вследствие избытка воспалительных медиаторов, оксидативного стресса и повреждения синусоидальных эндотелиальных клеток [8–11]. Сложный патогенез порождает различные теоретические патофизиологические подходы к восстановлению функции печени при ПН. Во-первых, это ускорение ре-

генеративных процессов в печени. Экспериментальные исследования [2, 3] показывают, что стимуляция регенерации гепатоцитов различными факторами роста, такими как фактор роста гепатоцитов (HGF), эпидермальный фактор роста (EGF), трансформирующий фактор роста α (TGF- α), и некоторыми другими медиаторами способна ускорять процесс регенерации. Однако клиническое применение этого подхода весьма ограничено и требует более глубокого изучения. Другой подход состоит в увеличении метаболической массы с помощью трансплантации донорских гепатоцитов [2, 12]. Предполагается, что этот метод может быть использован как подготовка к операции трансплантации печени у пациентов с острой ПН или способствовать регенерации и восстановлению функции собственного органа. Однако до сих пор не проведены мультицентровые рандомизированные исследования, доказывающие клиническую эффективность клеточной терапии.

Большое будущее, по мнению большинства российских и зарубежных исследователей, у искусственных систем поддержки функции печени [13–23]. Искусственные системы поддержки функции печени, в зависимости от используемых технологий можно разделить на биологические, небиологические (искусственные, или свободные от клеточных технологий) и биоискусственные (или гибридные) устройства. Положительные и отрицательные стороны этих технологий, а также возможные пути развития следующих поколений биоискусственных систем представлены в настоящее время в 4 крупных научных обзорах [19, 20, 24, 25].

Механизм действия биологических систем искусственной поддержки функции печени основан на перфузии крови или плазмы через экстракорпоральный биореактор, содержащий живые культуры клеток печени. Целью применения этих устройств является поддержка детоксицирующей и метаболической функции печени при развитии печеночной недостаточности. В противоположность им небиологические устройства лишь удаляют водорастворимые и связанные с белками крови токсины.

Биоискусственные, или гибридные, системы сочетают обе предыдущие технологии.

Биологические системы искусственной поддержки функции печени

Концепция временного органозамещения нашла свое выражение в работах по использованию в клинике в качестве поддерживающего органа гетеро- или гомологической печени.

Первые экстракорпоральные перфузии с использованием печени свиньи были выполнены в 1965 г. 8 пациентам с терминальной ПН; в результате лечения было получено кратковременное улучшение неврологической симптоматики в виде выхода пациентов из состояния комы [26]. Позднее G.M. Abouin и соавт. сообщили о 2 пациентах, которые во время экстракорпоральной перфузии через печень свиньи вышли из состояния комы и были в последующем выписаны из стационара [27]. В России первые подключения донорской печени свиньи пациентам с острой ПН были выполнены Б.А. Петровым и Э.И. Гальпериным в 1967 г. в НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского. В 1975 г. в НИИ трансплантологии и искусственных органов начались работы по созданию систем вспомогательной печени, главным элементом которых служил биореактор с донорскими гепатоцитами [28].

Дальнейшему успешному развитию проблемы послужило предположение В. Eiseman о том, что в экстракорпоральных поддерживающих системах печеночная ткань, ее клетки или клеточные компоненты могут замещать все функции печени [26]. В настоящее время этой точки зрения придерживаются большинство исследователей, которые отдают предпочтение использованию в экстракорпоральных устройствах изолированных гепатоцитов. Используются свиные гепатоциты, клетки печени бабуинов, собак или культура клеток гепатомы человека. Вторым компонентом этих устройств являлась искусственная система для перфузии крови или плазмы пациента через живую культуру клеток [29–31]. Стабильность и выраженность лечебного эффекта зависят от объема паренхимы, сохранившейся в пораженной печени, и от суммарной биологической активности донорских клеток, достаточной для индуцирования регенерации органа. По мнению Н.Н. Скалецкого и Н.А. Онищенко, предпочтение при выборе биоматериала следует отдавать фетальным и неонатальным органам человека и животных, так как такие клетки приносят в организм реципиента уникальный комплекс биологически активных молекул — цитокинов и факторов роста, которые стимулируют пролиферацию и регенерацию гепатоцитов пораженной печени [32]. Анализируя результаты лечения 54 пациентов с хронической ПН различной этиологии, которым проводилось подключение экстракорпоральной системы биоискусственной поддержки печени, они пришли к заключению, что лечебный эффект клеточной терапии является прежде всего следствием индукции регенераторных процессов и ингибирования процессов апоптоза в паренхиматозных клетках поврежденной печени. При этом роль индукторов выполняют регуляторные пептиды, которые содержатся в клетках донорской печени и поступают в кровоток во время работы экстракорпоральной системы биоискусственной поддержки

печени. Тем не менее использование биореакторов в клинике не получило широкого распространения, в том числе из-за сложности получения достаточного количества биоматериала с высокой биологической активностью и способностью к пролиферации. В зарубежной печати активно обсуждается проблема потенциального риска заражения пациентов ретровирусами животных или развития иммунного конфликта при использовании ксеногенных гепатоцитов [33]. Поэтому, несмотря на то, что использование ксеногенных гепатоцитов в лечении печеночной недостаточности началось еще в середине XX в., до сих пор не проведено ни одного мультицентрового клинического рандомизированного исследования эффективности биоискусственных систем поддержки печени. В отечественной и зарубежной печати имеются описания только отдельных случаев успешного применения клеточных технологий, в основном в качестве поддержки перед ОТП («мост к ОТП») [5, 25, 28, 29, 34, 35].

Использование системы ELAD (extracorporeal liver assist device) — экстракорпоральной системы поддержки печени, которая включает инкапсулированные клетки линии гепатомы, анализируется в 2 исследованиях. В одном из них 24 пациента были распределены на 2 группы: в 1-й, с ожидаемой летальностью 50%, использовался ELAD; во 2-й группе, с ожидаемой летальностью 90% — стандартная медикаментозная терапия [36]. Применение ELAD привело к снижению уровня аммиака в артериальной крови и регрессу энцефалопатии, а также к уменьшению уровня сыровоточного билирубина, однако выживаемость не увеличилась. Результаты I фазы другого рандомизированного контролируемого исследования, в котором ELAD использовали у 19 пациентов с фульминантной ПН, ожидающих трансплантацию печени [30], показали статистически незначимое увеличение 30-дневной выживаемости при использовании ELAD в сравнении со стандартной медикаментозной терапией.

Регресс печеночной энцефалопатии у пациентов с острой ПН, ожидающих ОТП, был отмечен уже при первых клинических испытаниях системы Hepat-assist, биологической составляющей которой являются инкапсулированные свиные гепатоциты [31, 37]. В ходе рандомизированного многоцентрового исследования, включившего 171 пациента с острой ПН и первичной дисфункцией трансплантата, было показано, что 30-дневная выживаемость при дополнительном (к стандартной медикаментозной терапии) использовании системы Hepat-assist повышается с 46 до 71% [21].

Искусственные системы поддержки функции печени

В основе небиологических, или искусственных, систем поддержки печени лежит использование экстракорпоральных методов очищения крови. Технология поддерживающей терапии при заболеваниях печени развивается по пути разработки методов для поддержания функции оставшейся массы клеток за счет замещения различных специфических функций печени, поэтому экстракорпоральная гемокоррекция играет существенную роль в решении этой проблемы.

Использование гемодиализа или гемофильтрации, плазмафереза, гемо- или плазмасорбции оказалось достаточно безопасным для пациентов с ПН, эффективным

в лечении почечной дисфункции, уменьшении уровня энцефалопатии, выраженности эндогенной интоксикации. Однако результативность этих методов в элиминации альбуминсвязанных токсинов, билирубина, желчных кислот, ароматических аминокислот, средне- и короткоцепочечных жирных кислот, в значительном количестве накапливающихся при нарушении детоксигирующей функции печени, невысока. Использование неспецифических сорбентов, таких как уголь или анионообменные смолы, позволяет при прямом контакте с кровью или плазмой эффективно удалять токсические молекулы, но в то же время процедура может осложняться развитием биологической несовместимости и отсутствием селективности в удалении субстанций. Ряд исследователей отмечали снижение уровня фибриногена, активацию системы комплемента, что клинически проявлялось развитием системного воспалительного ответа [38, 39]. Кроме того, прямой контакт сорбентов с белками плазмы приводил к удалению из циркуляции фактора роста гепатоцитов и ряда гормонов, таких как гормон роста, трийодтиронин, паратгормон, стероидные гормоны и инсулин [39]. Попытки уменьшить нежелательные эффекты прямого контакта сорбентов с белками плазмы включали использование синтетических мембран, отделяющих кровь от сорбента. Применение низкопористой ацетилцеллюлозной мембраны, однако, не позволяло удалять токсические молекулы, связанные с альбумином; более того, уровень билирубина, маркера альбуминсвязанных токсинов, в процессе проведения терапии даже возрастал [40]. При использовании мембран с размером пор, достаточным для прохождения альбумина, но не более крупных белковых молекул плазмы (например, иммуноглобулинов класса М), из кровотока элиминировались иммуноглобулины класса G, фибриноген, липопротеиды, снижался билирубин и уменьшались клинические проявления энцефалопатии [40].

Клиническое использование экстракорпоральных небиологических систем поддержки печени в последнее десятилетие приобрело более широкие масштабы благодаря двум новым технологиям: альбуминовому диализу с использованием молекулярной адсорбирующей рециркулирующей системы (MARS, Gambro) и фракционной сепарации плазмы с адсорбцией (Prometheus, Fresenius).

Альбуминовый диализ с MARS в качестве поддерживающей терапии при заболеваниях печени был разработан Я. Штанге и С. Митцнером в Университете г. Росток (Германия) в 1996 г. Цель лечения заключается в селективном и эффективном удалении низко- и среднемолекулярных субстанций из крови [41]. Метод основан на возможности перехода по градиенту концентрации токсинов, связанных с альбумином пациента, через специфическую мембрану гемофильтра, проницаемого для молекул размером до 50 кДа, на свободные рецепторы донорского альбумина, циркулирующего в качестве диализирующего раствора. Насыщенный токсинами донорский альбумин рециркулирует через 2 картриджа с активированным углем и ионообменной смолой, а затем через капиллярный диализатор с бикарбонатным диализирующим раствором [42]. Адсорбция на угле и смоле освобождает донорский альбумин от альбумин-

связанных токсинов, а прохождение его через диализный контур обеспечивает удаление водорастворимых токсинов. В отечественной печати имеются публикации об отдельных клинических случаях применения альбуминового диализа у пациентов с острой ПН различной этиологии [13, 15, 43, 44].

В системе Prometheus используется специальный, проницаемый для молекул альбумина фильтр (размер пор до 90 кДа). Это позволяет просеиваться через мембрану токсинам, связанным с белками плазмы пациента. При дальнейшей циркуляции профильтрованного альбумина токсины удаляются специальными адсорбентами, после чего нативный альбумин с восстановленной связывающей способностью возвращается пациенту. Процесс происходит в комплексе с гемодиализом, что способствует удалению водорастворимых токсинов [22, 45].

Искусственные системы поддержки печени обеспечивают детоксикационную и поддерживают синтетическую функцию печени, а также благодаря наличию диализной составляющей осуществляют коррекцию метаболических нарушений, протезируя таким образом основные функции пораженной печени. В зарубежной печати представлены многочисленные сообщения, посвященные использованию и эффективности как системы MARS, так и системы Prometheus. Все исследователи отмечают значительное уменьшение уровня сывороточного билирубина и желчных кислот, а также других протеинсвязанных токсичных субстанций при применении систем MARS и Prometheus [44, 46, 47]. Первые исследования *in vitro* и *in vivo* с MARS показали значительное улучшение профиля свободных аминокислот плазмы, связанное с удалением избытка ароматических аминокислот (триптофана, фенилаланина) и относительным повышением уровня аминокислот с разветвленной цепью (валин, лейцин, изолейцин) [48, 49]. Это удаление аминокислот незначительно для физиологической потери белков и в то же время существенно для улучшения неврологического статуса. Отмечена высокая эффективность в элиминации таких альбуминсвязанных токсинов, как жирные, желчные кислоты, триптофан и билирубин, при использовании системы Prometheus [46, 47, 50]. В 2006 г. были опубликованы данные исследования P. Evenepoel и W. Laleman, в ходе которого сравнивался детоксикационный эффект систем MARS и Prometheus [45]. Авторы сообщают, что обе системы одинаково и значительно снижают уровень протеинсвязанных и водорастворимых токсинов. Однако Prometheus показал более высокий клиренс всех тестируемых субстанций, особенно билирубина. S. Sen и соавт. провели рандомизированное исследование, включавшее 18 пациентов с острым алкогольным гепатитом и показавшее, что MARS-терапия способствовала более выраженной регрессии печеночной энцефалопатии и нормализации гемодинамики по сравнению со стандартной медикаментозной терапией [23]. Эти эффекты авторы связали со значительным снижением плазменного уровня аммиака и концентрации оксида азота. В данном исследовании не отмечено улучшения почечной функции, изменения цитокинового профиля и уровня плазматического малонового диальдегида, а также улучшения выживаемости.

Исследование эффективности MARS и Prometheus по изменению цитокинового профиля у пациентов с декомпенсацией хронической ПН и острым алкогольным гепатитом показало более высокую способность MARS к удалению из циркуляции интерлейкинов — ИЛ (ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-10) и фактора некроза опухоли (TNF- α , TNF- α R1) [9]. В то же время P. Evenepoel и соавт. не отмечали изменения цитокинового профиля ни при использовании системы MARS, ни при использовании системы Prometheus [45].

В отдельных публикациях анализируется влияние альбуминового диализа на спланхтическую и системную гемодинамику у пациентов с острой и хронической ПН [51, 52]. Авторы отмечают значительное улучшение параметров гемодинамики, тенденцию к нормализации гипердинамической циркуляции с увеличением среднего артериального давления (АД), ударного объема и снижением периферического сосудистого сопротивления, а также стабилизацию системной микроциркуляции за счет удаления во время процедуры вазоактивных медиаторов.

В 2 исследованиях, выполненных в 2003 и 2005 гг., сообщается о том, что альбуминовый диализ с MARS значительно уменьшает портальную гипертензию, что было доказано снижением градиента давления в печеночных венах [49, 50]. В ходе исследования M.V. Catalina и соавт. проведен анализ влияния альбуминового диализа на портальное давление, системную гемодинамику и эндогенную вазоактивную систему [52]. Лечение проводилось 4 пациентам с декомпенсацией хронической ПН (Child-Pugh C), которым устанавливали катетер в правую легочную артерию, а также катетеризировали правую печеночную вену. У всех пациентов к концу первой сессии MARS снизился градиент давления в печеночных венах с $23 \pm 7,0$ до $17,3 \pm 9,9$ мм рт. ст. ($p=0,05$), в среднем уменьшаясь на $32 \pm 24\%$. Снижалось также давление заклинивания печеночных вен с $40,7 \pm 5,6$ до $34 \pm 9,6$ мм рт. ст. ($p=0,025$), среднее снижение — на $18 \pm 19\%$. Среднее значение градиента давления в конце первой сессии было значительно ниже исходного уровня, но оно увеличивалось перед второй сессией, уменьшаясь за время второй процедуры всего на 3%. Таким образом, эффект снижения портального давления носил транзиторный характер. Альбуминовый диализ значительно «смягчал» гипердинамическую циркуляцию за счет снижения минутного объема крови в среднем на 12,3% за сессию, увеличения среднего АД в среднем на 9,2% и общего периферического сопротивления сосудов в среднем на 41%. Значительно уменьшалось содержание в плазме активного ренина и норэпинефрина, что коррелировало со снижением портальной гипертензии. Авторы представляют свою работу как предварительное сообщение, высказывая предположение о том, что способность MARS удалять вазоактивные субстанции частично влияет на портальную гипертензию и может улучшать спланхтическую системную гемодинамику, что и собираются уточнить в ходе дальнейшего исследования.

S. Sen и соавт. подтвердили эти данные, проведя исследование с участием 9 пациентов, а также уточнили, что эффект снижения портального давления не зависит от экстракорпоральной циркуляции (так как отсутствует при проведении продленной вено-венозной гемо-

фильтрации, при которой из циркуляции удаляются только водорастворимые токсины), а является следствием элиминации альбуминсвязанных вазоактивных субстанций [53].

В 2006 г. были опубликованы результаты исследования, сравнивающего гемодинамические эффекты при применении двух систем: MARS и Prometheus [51]. Авторы сообщают о том, что применение системы Prometheus убедительно эффективнее в снижении уровня сывороточного билирубина, в то время как система MARS значительно улучшает параметры центральной гемодинамики за счет элиминации сывороточных маркеров циркуляторной дисфункции, таких как плазменный активатор ренина, альдостерон, норэпинефрин, вазопрессин и оксид азота. Следует отметить, что отдельные исследования эффективности MARS-терапии в лечении пациентов с острой ПН включают малые серии случаев, в которых отмечалось улучшение системной гемодинамики, регресс энцефалопатии, снижение внутричерепного давления.

Эффективность MARS-терапии в лечении пациентов с декомпенсацией хронической ПН представлена в ряде рандомизированных исследований, выполненных с участием небольшого числа пациентов. В одном из них оценивали эффект альбуминового диализа у пациентов с I типом гепаторенального синдрома. Пациенты ($n=13$) были рандомизированы на 2 группы: получавших MARS-терапию ($n=8$) или гемодиализацию ($n=5$). Пациенты, которым проводили альбуминовый диализ, имели значительное снижение уровня сывороточного билирубина и креатинина по сравнению с группой применения гемодиализации. В группе MARS 7-дневная выживаемость составила 27%, в то время как в группе гемодиализации — 0% [54]. Второе исследование было многоцентровым и рандомизированным, однако его результаты опубликованы только в виде тезисов [55]. Авторы стремились оценить эффективность альбуминового диализа у пациентов с циррозом печени и прогрессирующей энцефалопатией, конечной точкой исследования являлся регресс энцефалопатии с уменьшением на 2 градации по шкале West Haven. Выявлено, что применение MARS-терапии значительно повышает возможность восстановления по сравнению как со стандартной медикаментозной терапией, так и с продленной гемофильтрацией. Выживаемость в группе применения MARS составила 58%, в группе стандартной медикаментозной терапии — 37%. В настоящее время проводится Европейское многоцентровое рандомизированное клиническое исследование эффективности альбуминового диализа у пациентов с острой ПН — RELIFE, результаты которого должны быть опубликованы в 2012 г.

Заключение

Несмотря на значительное улучшение результатов лечения ПН, существующие на сегодняшний день системы поддержки печени еще далеки от совершенства. Замещающая в основном детоксицирующую функцию печени, современные аппараты не в состоянии поддерживать в полном объеме метаболическую и синтетическую функции, не говоря уже о желчевыделении. И тем не менее они увеличивают время жизни пациента, необходимое для регенерации поврежденной печени или поиска донорского органа для трансплантации.

1. Kim W.R., Brown R.S., Terrault N.A., El-Serag H. Burden of liver disease in the United States: summary of a workshop. *Hepatology* 2002;36:227—42.
2. Palmers D., Qayumi A.K., Spiegel H.U. Liver bridging techniques in the treatment of acute liver failure. *J Invest Surg* 2000;13:299—311.
3. Palmers D., Skawran S., Palmers H.U. Acute liver failure from bench to bedside. *Transplant Proc* 2005;37:1628—31.
4. Kreyman B., Seige M., Schweigart U. et al. Albumin dialysis: effective removal of copper in a patient with fulminant Wilson disease and successful bridging to liver transplantation: a new possibility for the elimination of protein-bound toxins. *J Hepatol* 1999;31:1080—5.
5. Kjaergard L.L., Liu J., Als-Nielsen B., Gluud C. Artificial and bioartificial support systems for acute and acute-on-chronic liver failure: a systematic review. *JAMA* 2003;289:217—22.
6. De Vriese A.S., Vanholder R.C., Pascual H. et al. Can inflammatory cytokines be removed efficiently by continuous renal replacement therapies? *Intensive Care Med* 1999;25:903—10.
7. Ambrosino G., Naso A., Feltracco P. et al. Cytokines and liver failure: modification of TNF and IL-6 in patients with acute on chronic liver decompensation treated with Molecular Adsorbent Regenerating System. *Acta Biomed Ateneo Parmense* 2003;74(2):7—9.
8. Matsubara S., Okabe K., Ouchi K. et al. Continuous removal of middle molecules by hemofiltration in patients with acute liver failure. *Crit Care Med* 1990;18:1331—8.
9. Stadlbauer V., Krisper P., Aigner R. et al. Effect of extracorporeal liver support by MARS and Prometheus on serum cytokines in acute-on-chronic liver failure. *Crit Care* 2006;10:169—74.
10. Mitzner S., Stange J., Klammt S. et al. Extracorporeal detoxification using the molecular adsorbent recirculating system for critically ill patients with liver failure. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:75—82.
11. Jalan R., Williams R. Acute-on-chronic liver failure: pathophysiological basis of therapeutic options. *Blood Purif* 2002;20:252—61.
12. Rajvanshi P., Larson A.M., Kowdley K.V. Temporary support for acute liver failure. *J Clin Gastroenterol* 2002;35:335—44.
13. Бокерия Л.А., Ярустовский М.Б., Гептнер Р.А. и др. Альбуминовый диализ в комплексной интенсивной терапии больных после кардиохирургических операций. Первый собственный опыт. *Анестезиол и реаниматол* 2005;(2):78—83.
14. Лужников Е.А., Гольдфарб Ю.С., Мусселиус С.Г. Детоксикационная терапия. Руководство для врачей. СПб.: Лань, 2000.
15. Хорошилов С.Е., Гранкин В.И., Скворцов С.В., Пономарев С.В. Лечение острой печеночной и печеночно-почечной недостаточности с применением альбуминового диализа на аппарате MARS. *Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол* 2006;(2):49—54.
16. Lamesch P., Jost U., Schreiter D. et al. Molecular Adsorbent Recirculating System in patients with liver failure. *Transpl Proceed* 2001;33:3480—2.
17. Gaspari R., Avolio A.W., Zileri Dal Verme L. et al. Molecular adsorbent recirculating system in liver transplantation: safety and efficacy. *Transplantation Proceedings* 2006;38:3544—51.
18. Hetz H., Faybik P., Berlakovich G. et al. Molecular adsorbent recirculating system in patients with early allograft dysfunction after liver transplantation: a pilot study. *Liver Transpl* 2006;(12):1357—64.
19. Park J.K., Lee D.H. Bioartificial liver systems: current status and future perspective. *J Biosci Bioeng* 2005;99:311—9.
20. Laleman W., Wilmer A., Evenepoel P. et al. Review article: non-biological liver support in liver failure. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:351—63.
21. Demetriou A.A., Brown R.S., Busuttill R.W. et al. Prospective, randomized, multicenter, controlled trial of a bioartificial liver in treating acute liver failure. *Ann Surg* 2004;239:660—7.
22. Rifai K., Ernst T., Kretschmer U. et al. Removal selectivity of Prometheus: a new extracorporeal liver support device. *World J Gastroenterol* 2006;(12):940—4.
23. Sen S., Davis N., Mookerjee R.P. et al. Pathophysiological effects of albumin dialysis in acute-on-chronic liver failure: a randomized controlled study. *Liver Transpl* 2004;10:1109—19.
24. Chamuleau R.A., Poyck P.P., Van de Kerkhove M.P. Bioartificial liver: its pros and cons. *Ther Apher Dial* 2006;(10):168—74.
25. Van de Kerkhove M.P., Hoekstra R., Chamuleau R.A., Van Gulik T.M. Clinical application of bioartificial liver support systems. *Ann Surg* 2004;240:216—30.
26. Eisman B., Van Wyk J., Griffen W.O. Methods for extracorporeal hepatic assist. *Ann Surg Gynec Obstet* 1966;123:522—30.
27. Abouno G.M., Fisher L.M., Porter K.H., Anders G. Experience in the treatment of hepatic failure by intermittent liver hemoperfusion. *Ann Surg Gynec Obstet* 1973;137:74.
28. Шумаков В.И., Писаревский А.А., Онищенко Н.А. и др. Коррекция нарушений гомеостаза в организме при тяжелых формах печеночной недостаточности методами физико-химической и биологической детоксикации. Очерки по физиологическим проблемам трансплантологии и применения искусственных органов. Под ред. акад. В.И. Шумакова. Тула: Репроникс Лтд., 1998. с. 93—118.
29. Rozga J., Podesta L., Le Page E. et al. A bioartificial liver to treat severe acute liver failure. *Ann Surg* 1994;219:538—46.
30. Ellis A.J., Hughes R.D., Wendon J.A. et al. Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996;24:1446—53.
31. Arkadopoulos N., Detry O., Rozga J. et al. Liver assist system: state of the art. *Int Artif Organs* 1998;21:781.
32. Скалецкий Н.Н., Онищенко Н.А. Клеточная трансплантация: достижения и перспективы. *Вестн трансплантол и искусств органов* 2001;(3—4):94—102.
33. Davenport A. Continuous renal replacement therapy for liver disease. *Hemodial Int* 2003;7(3):348—52.
34. Шиманко И.И., Мусселиус С.Г. Острая печеночно-почечная недостаточность. М.: Медицина, 1993.
35. Detry O., Arkadopoulos N., Ting P. et al. Clinical use of a bioartificial liver in the treatment of acetaminophen-induced fulminant hepatic failure. *Am Surg* 1999;65:934—8.
36. Millis J., Kramer D., Grady J.O. Results of phase I trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Am J Transplant* 2001;(1):391—8.
37. Samuel D., Ichai P., Feray C. et al. Neurological improvement during bioartificial liver sessions in patients with acute liver failure awaiting transplantation. *Transplantation* 2002;73:257—64.
38. Shiga Y., Fujihara K., Onodera H. et al. Complement activation as a cause of transient hypotension during plasmapheresis. *ArtifOrgans* 1998;22(12):1067—9.
39. Winchester J.F., Ratcliffe J.G., Carlyle E., Kennedy A.C. Solute, amino acid and hormone changes with coated charcoal hemoperfusion in uremia. *Kidney Int* 1978;14(1):74—81.
40. Kramer L., Gendo A., Funk G. et al. Clinical experience with artificial liver support in chronic liver failure with encephalopathy. *ASAIO J* 1997;46(2):211.
41. Stange J., Mitzner S. A carrier-mediated transport of toxins in a hybrid membrane. Safety barrier between a patients blood and a bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 1996;19:677—91.
42. Stange J., Ramlow W., Mitzner S. et al.

Dialysis against a recycled albumin solution enables the removal of albumin-bound toxins. *Artif Organs* 1993;17:809—13.

43. Хасабов Н.Н. Гусейнова Л.А., Анашкин В.А. и др. Острый токсический гепатит с тяжелым холестатическим синдромом, обусловленный приемом анаболических стероидных гормонов, успешно леченный альбуминовым диализом (MARS). *Нефрол и диализ* 2003;5(1):82—5.

44. Ямпольский А.Ф. Молекулярная адсорбционно-рециркулирующая система (МАРС) — новый метод лечения печеночной недостаточности. Первый собственный опыт. *Нефрол и диализ* 2003;5(1):15—20.

45. Evenepoel P, Laleman W, Wilmer A. et al. Prometheus versus molecular adsorbents recirculating system: comparison of efficiency in two different liver detoxification devices. *Artif Organs* 2006;30:276—84.

46. Awad S.S., Rich P.B., Kolla S. et al. Characteristics of an albumin dialysate

hemodiafiltration system for the clearance of unconjugated bilirubin. *ASAIO J* 1997;43:745—9.

47. Evenepoel P, Laleman W, Wilmer A. et al. Detoxifying capacity and kinetics of Prometheus- a new extracorporeal system for the treatment of liver failure. *Blood Purif* 2005;23:349—58.

48. Awad S.S., Rich P., Kolla S. et al. Can the clearance of phenylalanine be enhanced using an albumin dialysate hemodiafiltration system? *Surg Forum* 1997;48:151—3.

49. Loock J., Peters E., Stange J. et al. Change of human serum amino acid patterns (Fischer index) during a new dialysis treatment for liver failure (MARS). *Int J Artif Organs* 1997;20:500A.

50. Senf R., Klinge R., Kurz S. et al. Bilirubin-adsorption in 23 critically ill patients with liver failure. *Int J Artif Organs* 2004;27(4):717—22.

51. Laleman W, Wilmer A., Evenepoel P. et al. Effect of the molecular adsorbent recirculation system and Prometheus devices on

systemic haemodynamics and vasoactive agents in patients with acute-on-chronic alcoholic liver failure. *Crit Care* 2006;(10):108.

52. Catalina M.V., Barrio J., Anaya F. et al. Hepatic and systemic haemodynamic changes after MARS in patients with acute on chronic liver failure. *Liver Int* 2003;23(3):39—43.

53. Sen S., Mookerjee R.P., Cheshire L.M. et al. Albumin dialysis reduces portal pressure acutely in patients with severe alcoholic hepatitis. *Hepatology* 2005;43(1):142—8.

54. Mitzner S., Stange J., Klammt S. et al. Improvement of hepatorenal syndrome with extracorporeal albumin dialysis MARS: results of a prospective, randomized clinical trial. *Liver Transpl* 2000;6(3):277—86.

55. Kramer L., Gendo A., Funk G. et al. Clinical experience with artificial liver support in chronic liver failure with encephalopathy. *ASAIO J* 1997;46(2):211.

Количественная и качественная оценка стволовых клеток кадаверного костного мозга

В.Б. Хватов, Н.В. Боровкова, Е.Г. Колокольчикова, О.И. Конюшко, Н.А. Колтовой, И.Н. Пономарев, М.Г. Минина, А.С. Перцев, М.Ш. Хубутия

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

Quantitative and qualitative assessment of cadaver bone marrow stem cells

V.B. Khvatov, N.V. Borovkova, E.G. Kolokolchikova, O.I. Konyushko, N.A. Koltovoy, I.N. Ponomarev, M.G. Minina, A.S. Pertsev, M.Sh. Khubutia
N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow

Stem cell transplantation is a major tool of modern regenerative medicine. Stem cells can be obtained from the bone marrow (BM) of dead subjects.

Objective: to provide a morphofunctional characterization of the cells obtained from the bone marrow of dead donor tissues by aspiration methods.

Materials and methods. BM samples were taken from 17 adult cadaver subjects, who had suddenly died from myocardial infarction or pulmonary artery embolism, not later than 6 hours after sudden death. BM was simultaneously taken (from the iliac bones on different sides) in 10 donors by aspiration and aspiration-washing methods within an hour. In 7 donors, BM sampling was made by the aspiration method (for 30 min) and then by the aspiration-washing (Valeri Borisovich khvatov khvatov@yandex.ru) method (for the following 30 min).

Results. The count of CD45^{low}CD34⁺-cells obtained by the aspiration and aspiration-washing methods for taking BM differs insignificantly. The morphological pattern of the BM taken from live donors and cadavers is similar. When the aspiration and aspiration-washing methods are concurrently used, the total yield of viable hematopoietic stem cells averaged $99.8 \pm 25.0 \times 10^6$ cells.

Conclusion. BM sampling from donor tissues in the first 6 hours of death yields viable, functionally active hematopoietic stem cells. Both the aspiration method and the aspiration-washing one may be used to sample BM from dead donor tissues. The successive use of aspiration and aspiration-washing is most efficacious. This combination of the methods enables one to obtain a BM suspension containing the therapeutic dose of hematopoietic stem cells.

Key words: donor tissues, hematopoietic stem cells, bone marrow, morphological study, immunological study.