

## Изменение активности воспаления и выраженности фиброза у больных алкогольным циррозом печени после трансплантации аутогенных гемопоэтических стволовых клеток

Г.Р. Бурганова<sup>1</sup>, С.Р. Абдулхаков<sup>1</sup>, А.А. Гумерова<sup>1,2</sup>, И.М. Газизов<sup>1</sup>, Т.С. Йылмаз<sup>1</sup>, М.А. Титова<sup>1</sup>, А.Х. Одинцова<sup>3</sup>, А.П. Киясов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Казанский государственный медицинский университет, Казань

<sup>2</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

<sup>3</sup>Республиканская клиническая больница Министерства Здравоохранения республики Татарстан, Казань

### Changes of the inflammatory activity and fibrosis in patients with alcoholic liver cirrhosis after autologous hematopoietic stem cell transplantation

G.R. Burganova<sup>1</sup>, S.R. Abdulkhakov<sup>1</sup>, A.A. Gumerova<sup>1,2</sup>, I.M. Gazizov<sup>1</sup>, T.S. Yilmaz<sup>1</sup>, M.A. Titova<sup>1</sup>, A.Kh. Odintcova<sup>3</sup>, A.P. Kiassov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kazan State Medical University, Kazan

<sup>2</sup>Kazan (Volga region) Federal University, Kazan

<sup>3</sup>Republican Clinical Hospital, Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan

Наиболее информативным методом оценки результатов лечения хронических заболеваний печени является морфологический анализ биоптатов. Целью исследования стало изучение эффективности трансплантации аутогенных гемопоэтических стволовых клеток в терапии алкогольного цирроза печени. Исследования проведены на биоптатах печени 11 больных алкогольным циррозом печени. Биоптаты были получены до введения аутогенных гемопоэтических стволовых клеток в чревный ствол, а также через 3 и 12 мес. после трансплантации и окрашены гематоксилин-эозином и по методу Ван Гизона. Результаты исследования показали, что через 3 и 12 мес. после трансплантации происходит улучшение структуры печени и снижение индекса гистологической активности. При анализе индекса фиброза существенной динамики показателей отмечено не было. Полученные нами данные свидетельствуют, что трансплантация аутогенных гемопоэтических стволовых клеток пациентам с алкогольным циррозом печени является достаточно эффективным методом, позволяющим снизить активность воспаления в печени и улучшить ее морфологическую структуру.

**Ключевые слова:** алкогольный цирроз печени, гемопоэтические стволовые клетки, трансплантация, регенерация, фиброз печени.

Характерной особенностью заболеваний печени, во многом затрудняющей их диагностику, является несоответствие клинических и лабораторных проявлений выраженности морфологических изменений в печени. Уровень аминотрансфераз в сыворотке мало зависит от патогистологических изменений в печени и может оставаться в пределах нормы в том числе и при циррозе печени, а также может меняться спонтанно или в ответ на различные факторы, не имеющие отношения к течению заболевания [1–3]. Инструментальные исследования также не дают достоверной информации о тяжести патологического процесса [4]. Таким образом, морфологическое исследование по-прежнему остается «золотым стан-

*Evaluation of treatment results of chronic liver diseases should be made on the basis of morphological analysis of liver biopsies. The aim of our study was to investigate the effect of autologous hematopoietic stem cell transplantation on histology activity index and grade of fibrosis in alcoholic liver cirrhosis patients. The study was performed on liver biopsies of 11 patients with alcoholic liver cirrhosis. Biopsies were taken before the injection of autologous peripheral blood stem cells into celiac trunk, 3 and 12 months after the procedure. Liver biopsy specimens were stained with hematoxylin-eosin and Van Gieson's. Results showed improvement of liver structure and decrease in histology activity index in liver biopsies performed 3 and 12 months after transplantation. Our data suggest that autologous transplantation of hematopoietic stem cell in patients with alcoholic liver cirrhosis is effective method that is capable to reduce inflammation activity in the liver, improve its structure and decrease liver fibrogenesis.*

**Key words:** alcoholic liver cirrhosis, hematopoietic stem cells, transplantation, regeneration, liver fibrosis.

дартром» диагностики воспалительных изменений и фиброза печени.

Согласно существующей классификации хронических гепатитов [5], окончательный и полный диагноз должен отражать этиологию, степень активности и стадию заболевания. Морфологический анализ биоптатов печени является единственным способом, позволяющим определить активность и стадию хронического гепатита, прогнозировать течение заболевания, выявлять механизмы повреждения и контролировать эффективность лечения, в данном случае – терапии стволовыми клетками. Целью исследования было определение влияния трансплантации аутогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) на активность

e-mail: guzel.burganova@gmail.com

воспаления и выраженность фиброза у больных алкогольным циррозом печени.

**Материал и методы**

Клинико-морфологические исследования были выполнены с письменного информированного согласия пациентов и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской Декларации (2000), одобрены Ученым советом Казанского государственного медицинского университета и Этическим комитетом Министерства здравоохранения Республики Татарстан.

В клиническом исследовании участвовали 11 пациентов с алкогольным циррозом печени (класс А и В по Чайлд-Пью), которым до начала лечения проводили биопсию печени. Затем в течение 5 дней пациентам вводили препарат гранулоцитарного колониестимулирующего фактора в дозе 480 мкг, после чего получали аутогенные ГСК (в составе лейкоцитарной массы с высоким содержанием ядросодержащих мононуклеаров). Выделенные ГСК вводили в чревной ствол. Через 3 и 12 мес. после трансплантации проводили повторные биопсии печени. Парафиновые срезы биоптатов окрашивали гематоксилин-эозином, а также гематоксилин-пикрофуксином по методу Ван Гизона. Полученные гистологические препараты были исследованы по протоколу, который представляет собой унифицированную балльную систему, включающую оценку гистологической активности воспалительного процесса и выраженности фиброза [6, 7] тремя независимыми морфологами, для повышения достоверности результатов оценки.

**Результаты**

До трансплантации аутогенных ГСК индекс гистологической активности (ИГА) колебался в пределах 10–15 баллов (в среднем – 11,7 баллов), что соответствует умеренному и тяжелому хроническому гепатиту. При сравнительном анализе через 3 мес. после трансплантации практически у всех пациентов произошло снижение ИГА (рис. 1): в числовом выражении ИГА находился в интервале 8–14 баллов (в среднем 10,6 баллов, что соответствует слабовыраженному и умеренному хроническому гепатиту).

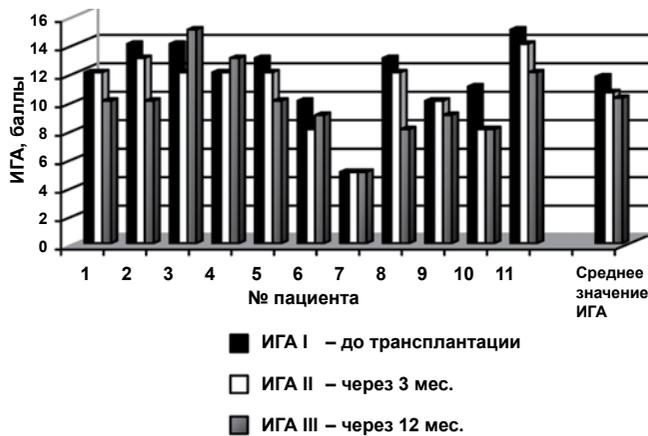


Рис. 2. Значения индекса гистологической активности (ИГА) у больных алкогольным циррозом печени до трансплантации и на разных сроках после введения аутогенных ГСК

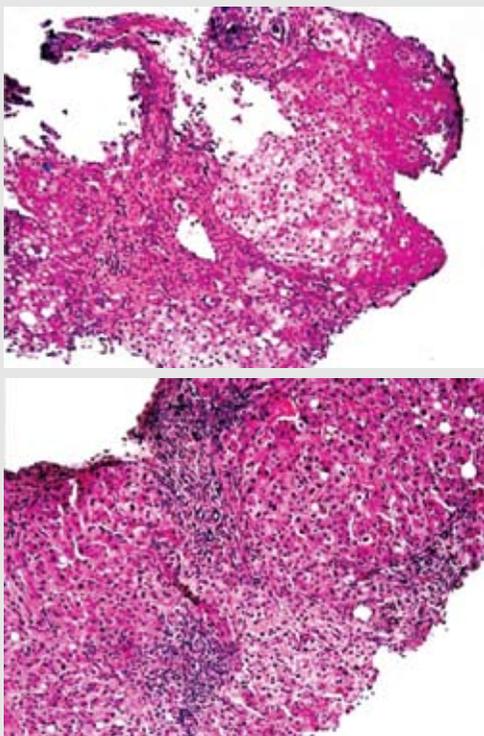


Рис. 1. Биоптат печени больного хроническим алкогольным гепатитом: А – через 3 мес. после трансплантации аутогенных ГСК, Б – через 12 мес. после трансплантации аутогенных ГСК. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. ×100

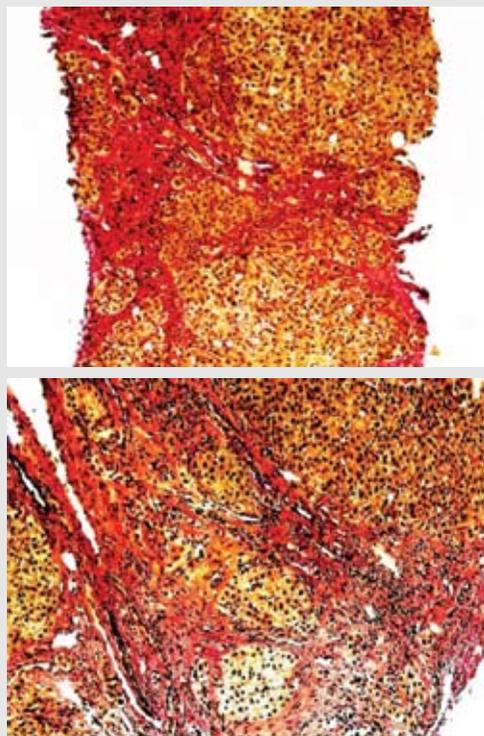


Рис. 3. Биоптат печени больного хроническим алкогольным гепатитом: А – через 3 мес. после трансплантации аутогенных ГСК; Б – через 12 мес. после трансплантации аутогенных ГСК. Окраска: по методу Ван Гизона. Ув. ×100

Через 12 мес. после аутотрансплантации фракции мононуклеаров периферической крови при анализе биоптатов печени мы наблюдали увеличение разброса значений ИГА от 8 до 15 баллов (в среднем — 10,2 баллов, рис. 2). Данные диаграммы наглядно иллюстрируют снижение ИГА у больных алкогольным циррозом печени через 3 мес. после трансплантации мононуклеаров периферической крови с тенденцией к продолжающемуся более медленному снижению ИГА в течение 12 мес.

При анализе индекса фиброза (ИФ) мы наблюдали схожую картину: до трансплантации у 4 из 11 пациентов исследуемой группы был диагностирован цирроз, у 7 других пациентов — фиброз печени различной выраженности (рис. 3). Через 3 мес. после трансплантации морфологический диагноз цирроза был выставлен 2 пациентам, через 12 мес. — 3 пациентам (рис. 4). В отличие от ИГА, при анализе среднего показателя ИФ отмечалось незначительное уменьшение ИФ через 3 мес. после трансплантации и возвращение к первоначальному уровню через 12 мес.

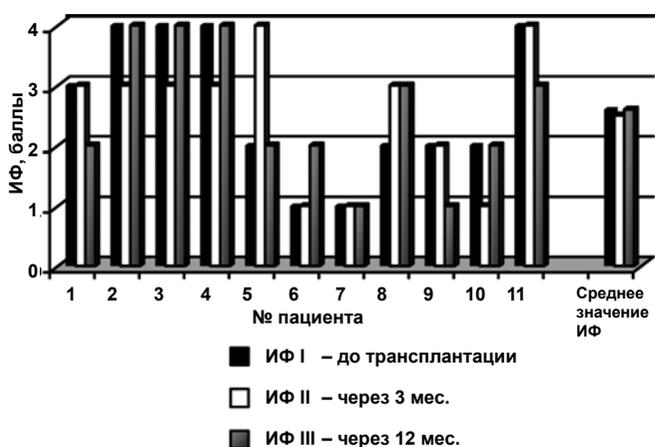


Рис. 4. Значения индекса фиброза (ИФ) у больных алкогольным циррозом до трансплантации и на разных сроках после введения аутогенных ГСК

### Обсуждение

В значительном количестве работ, посвященных изучению возможности использования стволовых клеток различного происхождения в терапии пациентов с хроническими заболеваниями печени, авторы оценивали эффективность трансплантации клеток по изменению показателей шкалы Чайлд-Пью, индекса MELD и биохимических показателей [8, 9]. Однако

последние, в частности, уровень аминотрансфераз, не отражают изменений гистологической структуры в печени и не имеют прогностической значимости [10].

В 2006 г. была опубликована работа [11], в которой впервые эффективность терапии хронического гепатита и цирроза печени стволовыми клетками оценивалась с использованием иммуногистохимического анализа биоптатов печени. Биопсии были выполнены до введения клеток и через 4 нед. после трансплантации клеток костного мозга. Было установлено значительное усиление пролиферации клеток и экспрессии  $\alpha$ -фетопротеина через 4 нед. после трансплантации, что в совокупности с улучшением уровней сывороточного альбумина и общего белка, уменьшением баллов по шкале Чайлд-Пью и отсутствием побочных эффектов позволило авторам сделать вывод о перспективности данного метода в лечении декомпенсированного цирроза печени.

Учитывая необходимость морфологической оценки эффективности трансплантации на более поздних сроках после введения клеток, с одной стороны, и инвазивность манипуляции, с другой стороны, мы анализировали биоптаты печени и оценивали морфологическую картину на трех сроках: до введения аутогенных ГСК, через 3 мес. и 12 мес. после трансплантации. Впервые на этих сроках наблюдения нам удалось продемонстрировать эффект трансплантации мононуклеаров периферической крови в плане снижения активности воспалительного процесса. Отсутствие существенной динамики показателей ИФ может быть связано с тем, что пикрофуксин выявляет уже сформировавшуюся соединительную ткань, которая не исчезает после введения стволовых клеток в приносящий сосуд печени. Однако учитывая уменьшение воспалительной активности, можно предполагать, что введение аутогенных ГСК способно замедлить дальнейшее прогрессирование фиброза и накопление соединительной ткани в печени.

Полученные нами данные свидетельствуют, что трансплантация аутогенных ГСК в чревной ствол пациентам с алкогольным циррозом печени является безопасным и достаточно эффективным методом, позволяющим снизить активность воспаления в печени, улучшить ее морфологическую структуру, и, как следствие, отсрочить прогрессирование фиброза.

### Благодарности

Исследования проведены в рамках Республиканской программы «Развитие клеточной медицины в Республике Татарстан» и поддержаны грантом Президента РФ для молодых ученых (МК-7805.2010.7).

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Майер К.П. Гепатит и последствия гепатита: Практич. рук.: Пер. с нем. М.: ГЭОТАР Медицина; 1999.
2. Marcellin P., Levy S., Erlinger S. Therapy of hepatitis C: patients with normal aminotransferase levels. *Hepatology* 1997; 26(3): 1335–9.
3. Серов В.В. Сравнительная морфологическая характеристика хронических вирусных гепатитов В и С. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии* 1999; 9(1): 36–40.
4. Sherif S., Cammel G., Carey W.D. et al. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001; 33(1): 196–200.
5. Terminology of chronic hepatitis, hepatic allograft rejection, and nodular lesions of the liver: summary of recommendations. Developed by an International Working Party, supported by the World Congress of Gastroenterology, Los Angeles, 1994. *Am. J. Gastroenterol.* 1994; 8 (8): 5177–81.
6. Киясов А.П., Созинов А.С., Гумерова А.А. и соавт. Патогистологическая диагностика хронических вирусных гепатитов. Методические рекомендации № 2001/124 МЗ РФ. КГМУ. Казань; 2001

7. Desmet V.J., Gerber M., Hoofnagle J.H. et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19: 1513–20.

8. Kim J.K., Park Y.N., Kim J. S. et al. Autologous bone marrow infusion activates the progenitor cell compartment in patients with advanced liver cirrhosis. *Cell Transplantation* 2010; 19(10): 1237–46.

9. Lyra A.C., Soares M.B., Da Silva L.F. et al. Infusion of autologous bone marrow mononuclear cells through hepatic artery results in a short-term improvement of liver function in patients with chronic liver disease: a pilot randomized controlled study. *Euro. J. Gastroenter. Hepat.* 2010; 22(1): 33–42.

10. Sougioultzis S., Dalakas E., Hayes P.C. et al. Alcoholic hepatitis: from pathogenesis to treatment. *Curr. Med. Res. Opin.* 2005; 21(9): 1337–46.

11. Terai S., Ishikawa T., Omori K. et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cells* 2006; 24: 2292–8.

Поступила 14.08.2012