

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ

Применение клеточных и рентгенэндоваскулярных технологий в сочетании с регионарной перфузией перфторуглеродной эмульсии в лечении хронических диффузных заболеваний печени

Г.Д. Далгатов¹, В.Ф. Зубрицкий¹, И.Н. Сабурин², В.С. Репин², Р.В. Деев³,
И.В. Зайцева⁵, М.Н. Минок¹, М.А. Далгатова⁴

¹ Государственный институт усовершенствования врачей МО РФ, Москва

² Учреждение РАМН «НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН», Москва

³ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

⁴ ФГУ «ГНЦ Колопроктологии» Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи, Москва

⁵ Городская клиническая больница им. Ф.Э. Баумана «Утоли моя печали», Москва

Cell and roentgen endovascular technologies in combination with regional perfusion with perfluorocarbon emulsions in treatment of chronic diffuse liver diseases

G.D. Dalgatov¹, V.F. Zubritsky¹, I.N. Saburina², V.S. Repin², R.V. Deev³, I.V. Zaitseva⁵, M.N. Minok¹, M.A. Dalgatova⁴

¹ RF Ministry of Defense State Institute of Advanced Training of practicing physicians, Moscow

² Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, Moscow

³ S.M. Kirov Military Medical academy, Saint-Petersburg

⁴ State Scientific Center of Coloproctology, Rosmedtechnologies, Moscow

⁵ N.E. Baumann City Clinical Hospital «UtoLi Moja Pechali», Moscow

В статье представлены результаты пилотного клинического исследования применения регионарной перфузии перфторуглеродной эмульсии (ПЭ) и трансфузии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени (ХДЗП). В протокол исследования были включены 28 пациентов (17 мужчин и 11 женщин) с ХДЗП различной этиологии. Больные были разделены на основную (n=12) и контрольную (n=16) группы. Больным основной группы в селезеночную или печеночную артерию, сразу после введения ПЭ, вводили 10×10^6 аутогенных ММСК в 20–30 мл физиологического раствора со скоростью 0,5–1 мл/мин. Срок наблюдения составил до трех лет. Установлено, что пациенты, перенесшие трансфузию ММСК, характеризовались клиническим регрессом основного заболевания, что проявлялось в более значительном восстановлении белоксинтезирующей функции печени, купировании печеночной энцефалопатии и др. При морфологическом исследовании печени у этих больных выявлены признаки стабилизации процесса хронического воспаления и коллагеногенеза.

Ключевые слова: хронические диффузные заболевания печени, хронический гепатит, цирроз печени, перфторан, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки.

Проблема лечения хронических диффузных заболеваний печени (ХДЗП) с исходом в фиброз и цирроз не решена по настоящее время. Считается, что наиболее перспективным путем ее преодоления является поиск способов регуляции регенерации паренхимы органа и

The article deals with the results of a pilot clinical study of using a regional perfusion with perfluorocarbon emulsions (PE) and a transfusion of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) in patients with chronic diffuse liver diseases. Twenty eight (17 male and 11 female) patients with chronic diffuse liver diseases of different etiology were included into the protocol. All the patients were divided into a main group (n=12) and a control one (n=16). The injection of PE was followed immediately by administration of autologous MMSCs in the amount of 10×10^6 in 20–30 ml of physiologic saline at the rate of 0.5–1 ml per minute into the hepatic and splenic arteries of the main group patients. The follow-up period lasted up to three years. Patients who had undergone the MMSC transfusion were stated to have a clinical regression of the main disorder. It manifested itself as a more significant recovery of the protein synthetic function of the liver, controlling hepatic encephalopathy and so on. Morphologic studies of the liver in these patients revealed signs of stabilization of a chronic inflammatory process and collagen genesis.

Key words: chronic diffuse liver diseases, chronic hepatitis, liver cirrhosis, perftoran, multipotent mesenchymal stromal cells.

сопутствующего этому процессу избыточного коллагеногенеза [1, 2]. Известно, что фиброз и цирроз печени являются следствием непрерывного некроза гепатоцитов, поддерживающего хроническое воспаление, их постоянной регенерации, несбалансированного фиброгенеза

e-mail: dalgatov@mail.ru



с последующим формированием ложных долек во всей печени. Избыточное образование коллагеновых волокон и нарушение ангиоархитектоники органа приводит к поддержанию гипоксии клеток и их некрозу. Ответственными за этот безудержный фиброгенез считаются клетки Ито. Клетки системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ) печени при их активизации во время воспаления способны угнетать фиброгенную активность клеток Ито и потенцировать разрушение внеклеточного матрикса. Установлено, что присутствие в зоне фиброгенеза активных макрофагов предупреждает разрастание матрикса, блокирует процесс фиброгенеза и обеспечивает органо-типическую репаративную регенерацию [3–10]. Однако, по мере развития фиброза печени, тормозится воспаление *in situ* и нарастает депрессия клеток СМФ, что выводит систему клеток Ито из-под их контроля [11–15].

В качестве попытки разорвать порочный круг фиброзной дегенерации печени была предложена идея создания условий для постоянного пребывания активных макрофагов в зоне фиброгенеза, для чего использован феномен фагоцитоза перфторуглеродной эмульсии (ПЭ) с образованием т. н. «перфторофагов» и перфторофагальных гранул в паренхиматозных органах [16–19]. При проверке этой идеи установлено, что введение ПЭ с формированием перфторофагов в печени на модели цирроза замедляет развитие фиброза и способствует морфофункциональному восстановлению органа [19–24]. Антифиброзное действие ПЭ подтверждено также клиническими исследованиями в хирургической практике [25–27] и при профилактике спаечного процесса [28]. Установлено, что в зоне присутствия перфторофагов повышается парциальное напряжение тканевого кислорода (pO_2), что также может объяснить феномен замедления фиброзной дегенерации органа [29].

С позиций нашего исследования особый интерес представляет обнаруженный исследователями феномен фазного влияния ПЭ на реактивность СМФ. Установлено, что сразу после плеторического введения ПЭ происходит временное снижение реактивности СМФ, проявляющееся замедлением фагоцитоза и преходящей иммуносупрессией, длящейся от нескольких часов до 3 сут. и связанное с «выключением» макрофагов после массивного фагоцитоза ими капелек ПЭ. Затем наступает фаза стимуляции СМФ, прослеженная до 6 сут. и связанная, вероятно, с пополнением периферических тканей дифференцирующимися моноцитами из костного мозга [18; 30–35].

В последнее десятилетие активно изучаются различные варианты клеточных трансплантаций для коррекции ХДЗП. С целью компенсации печеночной недостаточности и продления жизни использовались различные типы клеток. В экспериментах на животных (крысы, свиньи) показано, что внутриселезеночное введение дефинитивных аллогенных гепатоцитов и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) приводит как к нормализации показателей белкового обмена, так и к колонизации печени реципиента донорскими клетками [37, 38]. Трансфузия стволовых кроветворных клеток ($CD34^+$), в том числе в портальную вену и в печеночную артерию, приводит к улучшению общего состояния пациентов, лабораторных показателей функций печени, в том числе — к снижению уровня билирубина в крови [36, 39–42]. Выполнены исследования по пересадке фетальных гепатоцитов, имеющих определенные преимущества перед остальными клетками (низкая иммуногенность, высокий пролиферативный потенциал) [43–45]. Следует, одна-

ко, отметить, что полученные результаты, в отношении воздействия на фиброгенез, оказались весьма противоречивыми.

Также перспективным признано направление клеточной трансплантологии, основанное на регионарном и адресном введении в зону-мишень клеток посредством рентгенангиохирургических, эндоскопических и минимально инвазивных манипуляций, позволяющих как минимизировать количество пересаживаемых клеток, так и воздействовать на зону-мишень с санационной и протективной целями [42, 46, 47].

Методики клеточной трансплантации не лишены недостатков. Описано возникновение различных побочных эффектов, приводящих как к гибели клеток, так и к ухудшению состояния пациента вплоть до летального исхода. К ним относится развитие реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Традиционно для предупреждения РТПХ использовалась цитостатическая химиотерапия и рентгенотерапия. Очевидно, что при клеточной трансплантации эти способы иммуносупрессии принципиально непригодны ввиду их прямой агрессивности в отношении трансплантируемых клеток. В качестве альтернативы этим цитотоксическим средствам оказалось клинически эффективным применение ММСК костного мозга как иммуномодулирующего средства. Так, В. Fang с соавт. (2007) сообщают о двух случаях, когда перед трансплантацией пуповинной крови выполнялась рентгенотерапия и химиотерапевтическая иммуноабляция, что не предотвратило последующее развитие РТПХ; в обоих случаях последующее применение ММСК костного мозга позволило редуцировать и минимизировать развитие РТПХ [48].

В свете вышеизложенного очевидна идея совместного введения клеток и регионарной инфузии ПЭ в комплексе лечения ХДЗП. При этом следует предположить, что вызванная превентивным введением достаточной дозы ПЭ регионарная преходящая иммуносупрессия позволит трансплантируемым клеткам на период свободного обращения избежать агрессии СМФ и разместиться в зоне-мишени. Кроме того, введение ПЭ непосредственно в сосудистое русло зоны-мишени должно реализовать эффект «первого прохождения» [49] ПЭ зоны фагоцитоза с максимально возможным насыщением перфторуглеродом регионарных фагоцитов.

Вместе с тем, при эффективной противовоспалительной терапии и затихании активности СМФ в зоне-мишени, на основной план выходит другой патологический фактор в отношении трансплантируемых клеток — избыточный коллагеногенез со снижением тканевого pO_2 . В этом случае справедливым является допущение, что выживаемость трансплантированных клеток в реципиентном ложе может быть улучшена, если в этой зоне тканевое pO_2 будет увеличено за счет целенаправленного формирования перфторофагальных гранул.

На основании вышеприведенных данных мы считаем актуальной проверку целесообразности регионарной имплантации ПЭ в СМФ зоны-мишени на фоне регионарной клеточной трансплантации при лечении ХДЗП, выполняемых в комплексе хирургического лечения. Так, у больных с синдромом портальной гипертензии, вызванным ХДЗП, селективная дозированная редукция портального кровотока путем рентгенэндоваскулярной редукции кровотока в селезеночной артерии (РЭРКА) обеспечивает регресс синдромов портальной гипертензии, гиперспленизма и отечно-асцитического, улучшает и стабилизирует общее состояние, замедляет развитие фиброза и гепатоцеллюлярной недостаточности [49–53].

Цель исследования — оценить эффективность нового комплексного метода лечения ХДЗП, заключающегося в последовательном введении в печеночный кровоток перфторуглеродной эмульсии и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на фоне рентгенэндоваскулярной редукции кровотока в селезеночной артерии.

Материал и методы

В исследование включены 28 пациентов (17 мужчин и 11 женщин) с ХДЗП, находившихся в клинике военно-полевой (морской) хирургии ГИУВ МО РФ на базе хирургических отделений ГКБ № 29 им. Н.Э. Баумана «Утоли моя печали» (г. Москва) в 2003–2008 гг. Возраст больных колебался от 27 до 68 лет и в среднем составил 48 лет. Период наблюдения больных ограничивался 3 годами, в среднем — 1,8 года. Показаниями к РЭРКСА послужили профилактика ($n=7$) или остановка ($n=17$) пищеводного или желудочного кровотечения, а также необходимость снижения потальной гипертензии и редукции отечно-асцитического синдрома и гиперспленизма. Как правило, больные целенаправленно переводились в хирургическое отделение из гастроэнтерологического отделения для выполнения РЭРКСА; при поступлении больных непосредственно в хирургическое отделение по ургентным показаниям обследование и коррекция консервативной терапии координировались курирующим гастроэнтерологом. При этом больные с активным вирусным процессом в исследование не включались.

Причиной ХДЗП у 12 больных послужил вирусный гепатит (В, С и D); у 13 — алкогольный гепатит; у 2 — острый токсический (медикаментозный) гепатит; у 1 — по причине аутоиммунного гепатита. У всех больных обнаружено варикозное расширение вен пищевода и желудка 1–3 степени; также у всех больных установлены синдромы портальной гипертензии, отечно-асцитический

и гиперспленизма. Анамнестические варикозные кровотечения были у 24 больных, из них с продолжающимся кровотечением в клинику были доставлены 17 больных.

Методика РЭРКСА заключалась в эмболизации селезеночной артерии линейными металлическими эмболами до достижения редукции кровотока 2–3 степени, что определялось ангиографически в ходе операции [52, 53] (рис. 1). У всех больных РЭРКСА завершалась интраоперационной инфузией 5–15 мл ПЭ «Перфторан»™ (согласно инструкции [18]) в селезеночную артерию со скоростью 0,5–1 мл/мин. Показанием к инфузии было купирование постэмболизационного синдрома [27, 29] и замедление фиброзной дегенерации печени [22].

По характеру дальнейшего операционного вмешательства и способа лечения больные были разделены на 2 группы: 1-я группа (основная) ($n=12$), 2-я группа (контрольная) ($n=16$). Больным основной группы в селезеночную или печеночную артерию, сразу после введения ПЭ, вводили в 20–30 мл физиологического раствора со скоростью 0,5–1 мл/мин 10×10^6 аутогенных ММСК. Применяли ММСК, полученные после 20 сут. культивирования в низкой плотности по ранее описанному протоколу [54]. Больным контрольной группы ММСК не вводились. По этиопатогенетическим, клинико-лабораторным, возрастным и социальным характеристикам группы были сходными. Все манипуляции одобрены и выполнялись с согласия Этического комитета 29 ГКБ г. Москвы. С каждым пациентом проводили разъяснительную работу и получали добровольное информированное согласие на проведение манипуляций.

Всем больным перед операцией, через сутки и через 1, 3, 6, 12 и 36 мес. после каждой операции выполняли ультразвуковое обследование печени и селезенки, включая доплерографию портального кровотока, эзофагогастроскопию; в эти же сроки выполнялись стандартные клинические лабораторные исследования. Степень печеночной недостаточности (ПН) оценивали согласно классификации С. Child, J. Turcotte (1964), модифицированной R. Pugh и соавт. (1973) [2]. При этом перед началом лечения класс «А» установлен 2 больным, «В» — 19 больным, «С» — 7 больным. Для оценки выраженности печеночной энцефалопатии (ПЭ) применялся тест связи чисел (Рейтана) [2]. Перед началом лечения ПЭ была выявлена у всех больных; при этом стадия 2 выявлена у 18 больных, стадия 3 — у 8 больных, стадия 4 — у 2 больных (табл. 1).

Больным обеих групп проводилось динамическое послеоперационное наблюдение в сроки до 3 лет, с кратностью не реже одного раза в 6 мес. В основной группе в случае отсутствия показаний к повторным РЭРКСА выполняли очередные инфузии перфторана и цитотрансфузии в селезеночную и/или печеночную артерию через каждые 6 мес. Пациентам контрольной группы выполнялись только инфузии перфторана. Всего сочетанное введение перфторана и клеток в основной группе выполнено в среднем 5 раз (от 1 до 9) каждому из больных, в контрольной группе перфторан вводился в среднем 6 раз (от 1 до 8) каждому из больных. Консервативное лечение проводилось в течение всего периода наблюдения, одинаковое для обеих групп. Как правило, в него входило курсовое применение Дюфалака™, урсодезоксихолиевой кислоты, Верошпирона™, Креона™, симптоматическая терапия и диетотерапия. По назначению врача-специалиста проводилась противовирусная терапия.

Морфологически диагноз верифицировался путем чрескожной биопсии печени, выполнявшейся до операции и через 6, 12 и более мес. после операции, при

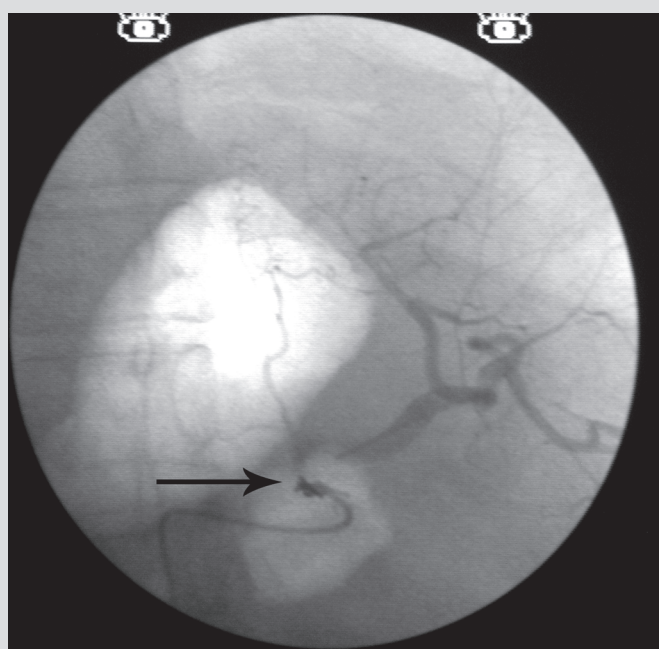


Рис. 1. Интраоперационная ангиограмма: эктазированная и извитая селезеночная артерия; визуализированы линейные эмболы, уровень остановки контраста (стрелка) соответствует магистральному руслу артерии. Достигнута редукция кровотока 2-й степени

Таблица 1. Выраженность энцефалопатии до и после лечения

Стадия энцефалопатии	Группа 1 (n=12)							Группа 2 (n=16)						
	До	После						До	После					
		1 сут.	7 сут.	30 сут.	90 сут.	180 сут.	3 года		1 сут.	7 сут.	30 сут.	90 сут.	180 сут.	3 года
Латентная	–	2	1	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–
1 стадия	–	8	7	9	1	3	2	–	2	6	8	–	2	1
2 стадия	9	2	4	3	9	7	9	9	9	10	8	13	12	11
3 стадия	2	–	–	–	1	–	–	6	5	–	–	3	2	1
4 стадия	1	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–

этом цирротическая трансформация печени установлена у 18 больных. В некоторых случаях, с целью мониторинга реакции СМФ печени у пациентов, вошедших в 1-ю группу, выполнялась биопсия через 10–20 мин. после операции, либо в ближайшие 2–14 сут. Полученный тканевый материал подвергался стандартной гистологической обработке. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван Гизону.

Для идентификации перфторофагов выполняли иммуногистохимическое исследование. Гистологические срезы изготавливали с парафиновых блоков биоптатов печени от пациентов через 10 мин. (3 больных) и через 24 ч (2 больных) после инфузии перфторана. После депарафинирования и блокировки эндогенной пероксидазы раствором 3% H_2O_2 (3 мин.), выполняли термическую демаскировку антигенов на водяной бане в цитратном буфере (10 ммоль/л, pH 6,0) при 96°C, в течение 30 мин. Далее препараты обрабатывали первичными антителами к CD68 – лизосомальному белку макрофагов (Anti-Human CD68, клон KP1, DakoCytomation, Дания). Визуализация продукта иммуногистохимической реакции осуществлялось при помощи системы DAKO EnVision (DakoCytomation, Дания). Реакцию считали положительной при отчетливом интенсивном цитоплазматическом окрашивании отдельных парасинусоидально расположенных клеток.

Для исследования ультраструктуры печени 2 больным из 1-й группы и 1 больному из 2-й группы была выполнена трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ). Материал для исследования также получали путем пункционной биопсии печени, выполненной сразу после оперативного вмешательства. Полученный столбик тканей немедленно фиксировали в 2,5% растворе глutarового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,2–7,4) и помещали в холодильник при +4°C на 30 мин. Обновляли раствор фиксатора и оставляли в холодильнике на 12–18 ч. Дофиксировали 1% раствором тетраоксида осмия. После этого осуществляли обезвоживание и обезжиривание образца по стандартной схеме [55]. Заливку осуществляли в аралдит. Полутонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме LKB-III и LKB-V (Швеция), окрашивали толудиновым синим и изучали в световом микроскопе Leica DMLA, со штатной цифровой камерой DC500 (Германия) при суммарном увеличении от $\times 250$ до $\times 900$. Определяли наиболее информативный и ценный в научном плане участок биоптата, включавший как паренхиму органа, так и синусоидные капилляры и осуществляли прицельную заточку полимерного блока. Ультратонкие срезы

изготавливали на том же оборудовании. Срезы монтировали на сетки, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и изучали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100C (Япония). В дальнейшем осуществляли качественное изучение биоптатов, с описанием их ультраструктуры. При микроскопировании обращали внимание, в первую очередь, на содержимое капилляров, развитие элементов соединительной ткани в перисинуоидальных пространствах, в печеночных дольках; ультраструктуру гепатоцитов и клеток Купфера.

Результаты и обсуждение

Операция и послеоперационный период у всех больных прошли без осложнений, за исключением реакции на введение ПЭ у 2 больных в 1-й группе и 1 больного во 2-й группе. Реакция заключалась в покраснении лица, учащения дыхания и сердцебиения. Реакция прошла через 5–15 мин. после внутривенного введения 60 мг преднизолона. На введение клеток патологических реакций не зарегистрировано.

В обеих группах отмечен непосредственный положительный эффект РЭРКСА в виде остановки кровотечения и/или снижения степени варикозного расширения вен пищевода и желудка, регресса отчетно-асцитического синдрома и гиперспленизма, улучшение лабораторных показателей, функционального состояния высшей нервной деятельности (табл. 1, 2 и 3).

В качестве дополнительного положительного эффекта отмечено практически полное купирование постэмболизационного синдрома в течение 1–3 сут. после операции, расцененное нами как результат введения ПЭ [27, 29].

Различия между 1-й и 2-й группами были отмечены уже через 1–5 сут. после вмешательства. Как правило, больные 1 группы через несколько часов (от 3 до 12) после операции субъективно отмечали появление ощущения «бодрости», «повышения жизненного тонуса», «выносливости и снижения утомляемости». Отмечалось большее снижение энцефалопатии (см. табл. 1) и лучшее самочувствие; при этом улучшение примерно в 30% случаев прогрессивно усиливалось на протяжении 1–2 нед. Указанное различие между группами сохранялось, как правило, на протяжении 1–3 мес., затем показатели выравнивались. При повторных клеточных трансплантациях положительные субъективные ощущения пациенты 1-й группы отмечали каждый раз, независимо от того, выполнялась РЭРКСА или нет.

Таблица 2. Результаты биохимического исследования крови до и после лечения

Показатели	Группа 1 (n=12)						
	Перед операцией	После операции					
		24 ч	7 сут.	30 сут.	90 сут.	6 мес.	3 года
АлТ (ед/л)	40,2±4,0	43,7±4,9	38,5±4,8	34,5±5,6	36,9±4,8	36,8±2,8	34,4±3,7
АсТ (ед/л)	60,3±2,7	63,0±3,0	55,9±3,1	47,7±2,3	49,4±2,8	54,7±2,4	48,5±1,6
Общий белок (г/л)	44,3±2,7	44,6±2,5	66,7±2,6	65,0±1,9	57,5±3,8	52,7±3,3	58,7±2,4
Альбумин (г/л)	18,8±1,5	19,6±1,4	27±1,5	25,4±1,2	24,2±1,0	23,8±2,3	25,8±2,7
ПТИ (%)	71±1,6	72,5±2,0	71,2±1,6	71,4±1,4	68,6±1,2	69,8±1,6	71,4±1,3

Таблица 3. Динамика тромбоцитопении до и после лечения

Степень тромбоцитопении	Группа 1 (n=12)							Группа 2 (n=16)						
	До	После операции						До	После операции					
		1 сут.	7 сут.	30 сут.	90 сут.	180 сут.	3 года		1 сут.	7 сут.	30 сут.	90 сут.	180 сут.	3 года
Норма $\geq 150 \times 10^9/\text{л}$		12	12	12	10	12	11		16	16	16	11	16	15
Легкая (75–149,9 $\times 10^9/\text{л}$)	2	–	–	–	2	–	1	5	–	–	–	5	–	1
Средняя (50–74,9 $\times 10^9/\text{л}$)	8	–	–	–	–	–	–	8	–	–	–	–	–	–
Тяжелая (25–49 $\times 10^9/\text{л}$)	2	–	–	–	–	–	–	3	–	–	–	–	–	–

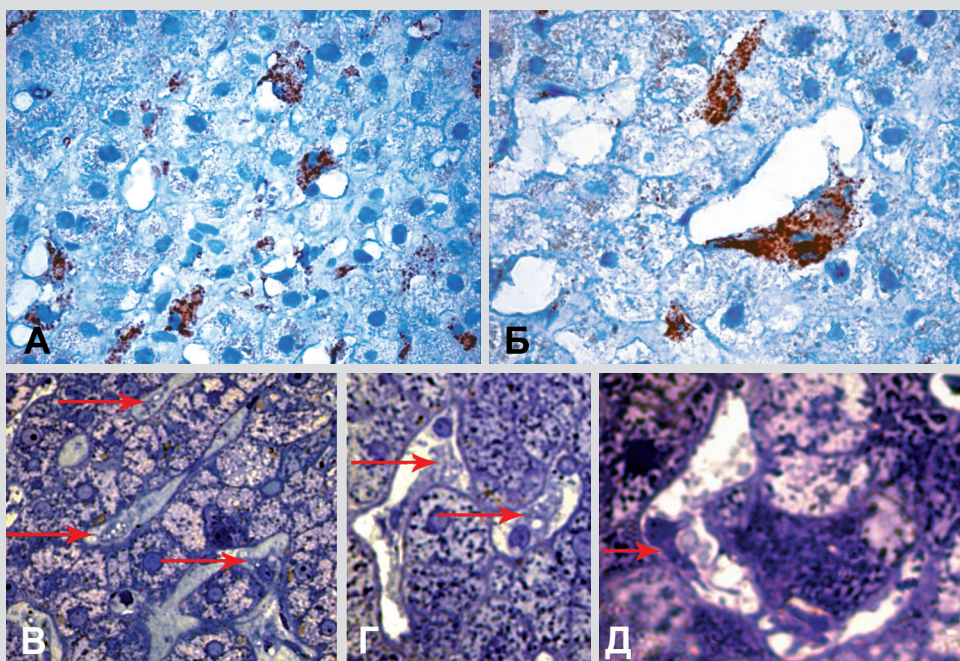


Рис. 2. «Перфторофаги» в печени у пациентов контрольной группы через 15 мин. после трансфузии:

А, Б – парасинусоидальное расположение $CD68^+$ клеток;

В, Г – активированные макрофаги с включениями ПЭ в синусоидах (указаны стрелками);

Д – пристеночный активированный макрофаг в синусоидном капилляре в момент фагоцитоза капли ПЭ (стрелка).

Окраска: А, Б – иммуногистохимическое исследование, продукт реакции окрашен в коричневый цвет, докраска гематоксилином;

В–Д – полутонкие срезы, окраска толуидиновым синим.

Ув.: А – $\times 250$; Б, Г – $\times 500$; В – $\times 400$; Д – $\times 600$

Группа 2 (n=16)						
Перед операцией	После операции					
	24 ч	7 сут.	30 сут.	90 сут.	6 мес.	3 года
41,2±4,4	43,9±4,0	39,2±4,3	40,9±4,3	36,5±4,3	37,8±4,1	40,1±3,8
54,9±3,0	56,7±3,1	47,7±3,5	49,3±3,8	51,3±4,1	53,6±4,1	44,4±5,7
40,6±3,5	41,1±2,2	40,4±1,7	38,6±2,5	38,9±1,6	39,6±1,8	37,0±1,7
19,3±1,6	19,2±1,6	18,4±1,8	18,4±1,5	17,6±1,3	17,9±1,8	18,1±1,8
71,4±1,8	72,3±1,7	71,3±1,5	70,6±1,6	71,7±1,3	73,3±1,9	70,1±3,1

Вместе с тем, как следует из табл. 1, у больных 1-й группы уже через 24 ч после операции произошло значительное (на 2 пункта) снижение выраженность энцефалопатии, при этом во 2-й группе изменений не произошло. У больных 2-й группы сходные изменения появились к 7-м сут. К 30-м сут. энцефалопатия в 1-й группе в среднем усилилась, и показатели в обеих группах стали сходными; эта тенденция сохранялась до 90 сут. При дальнейшем наблюдении в срок до 6 мес. энцефалопатия усугубилась во 2-й группе; в 1-й группе показатели оставались стабильными.

В промежуток от 6 до 12 мес. (в случае, если РЭРКСА не выполнялась) энцефалопатия в 1-й группе нарастала, но эти показатели были ниже, чем в 2-й группе, в среднем на 1 пункт. Допплерографические показания к проведению повторной РЭРКСА больным 1-й группы в среднем появлялись на 2-3 мес. позже, чем у больных 2-й группы.

Показатели уровня трансаминаз (АлТ, АсТ) при лечении менялись незначительно, однако показатели белоксинтезирующей функции печени (общий белок и альбумин крови) у больных 1-й группы в сроки от 7 до 30 сут. значительно увеличивались, стабилизируясь около уровня нормы в сроки от 3 до 6 мес. (см. табл. 2). После 6 мес. содержание белка в крови снижалось до исходных показателей. После очередной операции показатели содержания белка увеличивались и менялись с той же последовательностью, как и после первой операции.

Во 2-й группе белоксинтезирующая функция печени в после первой операции практически не изменялась, оставаясь ниже нормы; после повторных операций этот показатель в среднем незначительно улучшался, и эти изменения сохранялись в срок до 6 мес.

РЭРКСА во всех случаях позволяла уменьшить тромбоцитопению. В послеоперационном периоде у больных в обеих группах в течение 24 час. наблюдалось достоверное повышение содержания тромбоцитов в периферической крови, в части случаев до нормативных показателей (см. табл. 3). Этот эффект сохранялся в сроки от 3 до 6 мес. после РЭРКСА (в том числе и повторных) и был идентичным в обеих группах.

При наблюдении в сроки до 3 лет общее различие в группах заключалось в большей нормализации и/или стабилизации клинических, лабораторных, доплерографических, гистологических и ментальных показателей у больных 1-й группы.

При гистологическом исследовании биоптатов печени, взятых у больных обеих групп в период от 10–20 мин. до 60 сут. после операции, обнаруживались активированные клетки Купфера, содержащие ПЭ — «перфторо-

фаги». При этом они, выходили из парасинуоидального компартмента и находились в просвете синусоидов, как правило, в тесном контакте с эндотелиоцитами. Формировали множественные отростки, в цитоплазме на светооптическом уровне обнаруживали капли эмульсии различного калибра (рис. 2). Часть клеток Купфера в это же время не имели включений эмульсии, но их морфология соответствовала активированному состоянию и готовности к фагоцитозу. На электроннограммах клетки СМФ регистрировались в просвете синусоидов, имели ядра с признаками выраженной метаболической активности, их цитоплазма была заполнена каплями ПЭ, имеющими мелкогранулярное строение, среднюю электронную плотность.

В биоптатах печени, полученных от больных основной группы в паренхиме в просветах синусоидов и на их периферии помимо капель препарата и активированных макрофагов обнаруживались ММСК, расположенные как дискретно, так и в виде небольших кластеров (рис. 3).

Они имели либо фибробластоподобную морфологию, либо были округлыми. По сравнению с клетками Купфера имели меньшие размеры, значительно более базофильные ядра, тонкий цитоплазматический ободок вокруг ядра, не формировали выраженные отростки. На электронномикроскопическом уровне такие клетки отличались от клеток Купфера отсутствием включений ПЭ. Обращает на себя внимание, что часть клеток имели неравномерно расширенные перинуклеарные пространства и другие признаки повреждения; в ряде случаев не по всему периметру клетки можно было проследить целостность плазмолеммы (см. рис. 3). Через 1 мес. после трансфузии такие клетки выявлены не были, что представляется вполне закономерным — они либо колонизировали соответствующие тканевые ниши, либо были элиминированы.

Полученные морфологические данные не позволяют однозначно объяснить положительные эффект трансфузии клеток на течение патологического процесса. Наиболее убедительный результат был получен у пациентки с аутоиммунным гепатитом, что вероятно, может быть объяснено доказанными иммуномодулирующими потенциями ММСК [56–59]. Принимая во внимание существенный аутоиммунный компонент в протекании хронических гепатитов и циррозов вирусной этиологии [60] данный эффект может оказаться ключевым и у других пациентов. Необходимо ответить, что в ходе исследования однозначных данных за регресс фиброза и цирроза печени получено не было, но достоверным следует признать стабилизацию процесса фиброгенеза в органе, что для этой группы пациентов также является немаловажным.

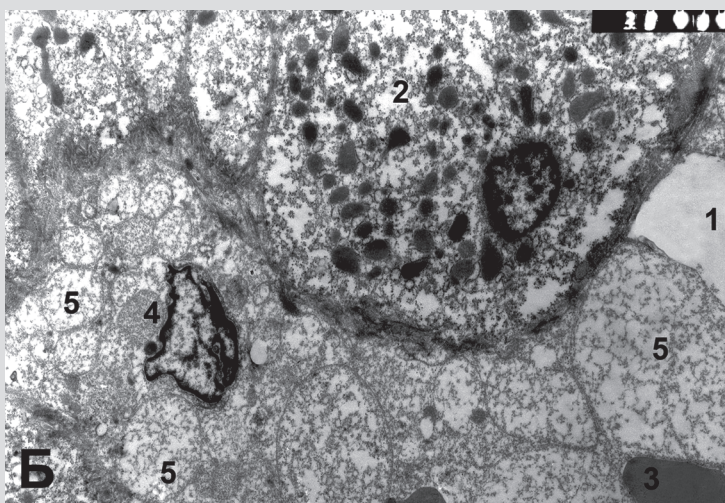
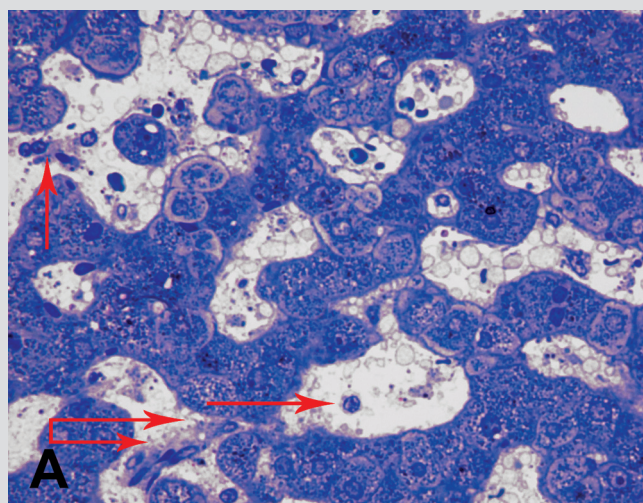


Рис. 3.

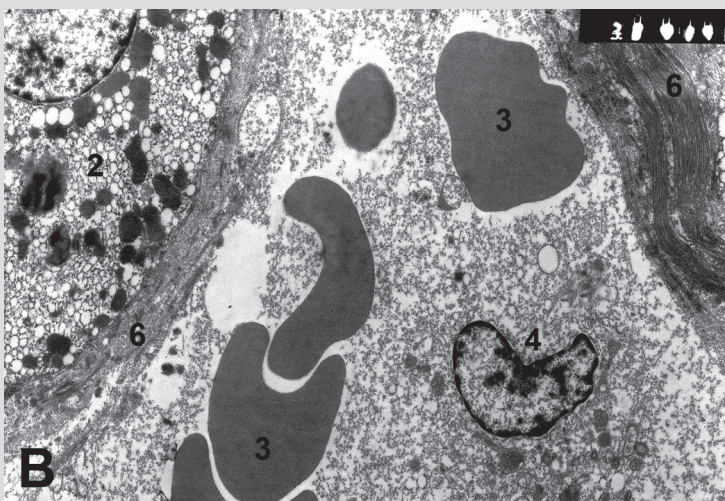
Структура и ультраструктура гепатобиоптата у пациентов опытной группы через 24 ч после инфузии ПЭ и клеток:

А – капли ПЭ и трансфузированные ММСК округлой (1) и фибробластоподобной формы в кластерах (2); Б, В – ультраструктура участка печени: 1 – просвет синусоидного капилляра; 2 – гепатоцит; 3 – эритроцит в синусоидном капилляре; 4 – ММСК в просвете синусоида, ядро и тонкий ободок цитоплазмы отделены от капель ПЭ (5) плазмолеммой по всему периметру; 6 – ядро ММСК с частично расширенным перинуклеарным пространством, разрывом плазмалеммы и гомогенизацией цитоплазмы и органелл; 7 – пучки коллагеновых волокон, фиброзирующих паренхиму органа.

А – полутонкий срез (окраска толудиновым синим);

Б, В – ТЭМ.

Ув.: А – $\times 250$; Б – $\times 3000$, В – $\times 2500$



При динамическом наблюдении на протяжении 3 лет из-за полиорганной недостаточности умер один больной из основной группы («С» по Child-Pugh) (через 2 мес. после операции). В контрольной группе на протяжении года умерло 3 больных («С» по Child-Pugh). За период наблюдения по социальным и организационным причинам прекратили лечение 3 больных из основной группы и 5 больных из группы контроля, остальные больные продолжают находиться под наблюдением.

Клинический пример

Пациентка Л., 35 лет. Находится под наблюдением в течение 4 лет. Впервые обратилась за медицинской помощью по поводу заболевания и была госпитализирована на гастроэнтерологическое отделение 29 ГКБ г. Москвы 27.02.2006 г. Поступила в состоянии средней тяжести, с жалобами на пожелтение склер и внезапное увеличение живота, нарастающую общую слабость. Инфекционные болезни, в т.ч. вирусные гепатиты, переливания крови, операции, употребление наркотиков в анамнезе отрицает.

По данным ультразвукового исследования органов живота 27.02.2006 печень увеличена за счет правой доли (16 $\times$ 6 см), экзогенность повышенная, диффузные изменения; селезенка обычных размеров, в брюшной полости большое количество жидкости. Выполнена эндоскопическая фиброгастроскопия (03.03.2006): варикозное расширение вен пищевода 2 ст., хронический

гастрит. При исследовании крови (03.2006) установлено отсутствие генетического материала вирусов гепатита В, С, G, положительная реакция на антитела к ядрам на клетках НЕР-2, обнаружены антитела к денатурированной (ss) ДНК, к вирусу герпеса 1 типа, иные инфекции – не обнаружены.

Компьютерная томография органов живота от 20.03.2006: печень умеренно увеличена (вертикальный размер правой доли около 130 мм), с ровными контурами, однородной структуры. Плотность паренхимы диффузно снижена в среднем до +43 едН. Внутрипеченочные желчные протоки и сосудистые структуры на этом фоне не визуализируются. Желчный пузырь не увеличен, стенки его уплотнены, в просвете определяются включения кальциевой плотности. Лимфоаденопатии и свободной жидкости в брюшной полости не выявлено. Заключение: КТ-признаки умеренно выраженной гепатомегалии, жирового гепатоза, хронического калькулезного холецистита.

В связи с данными, указывающими на патологию печени, выполнена пункционная чрескожная гепатобиопсия (рис. 4 А, Б). Заключение (04.2006): Микронодулярный цирроз печени (ИГА=3+3+2+6 (по K. Ishak, (1995); индекс фиброза 6 баллов, что подразумевает сформированный цирроз с выраженным внутридольковым фиброзом (см. рис. 4 Б). Выставлен диагноз: «Цирроз печени, аутоиммунный, минимальной активности, класс А-В (по Child-Pugh). Синдром портальной гипертензии;

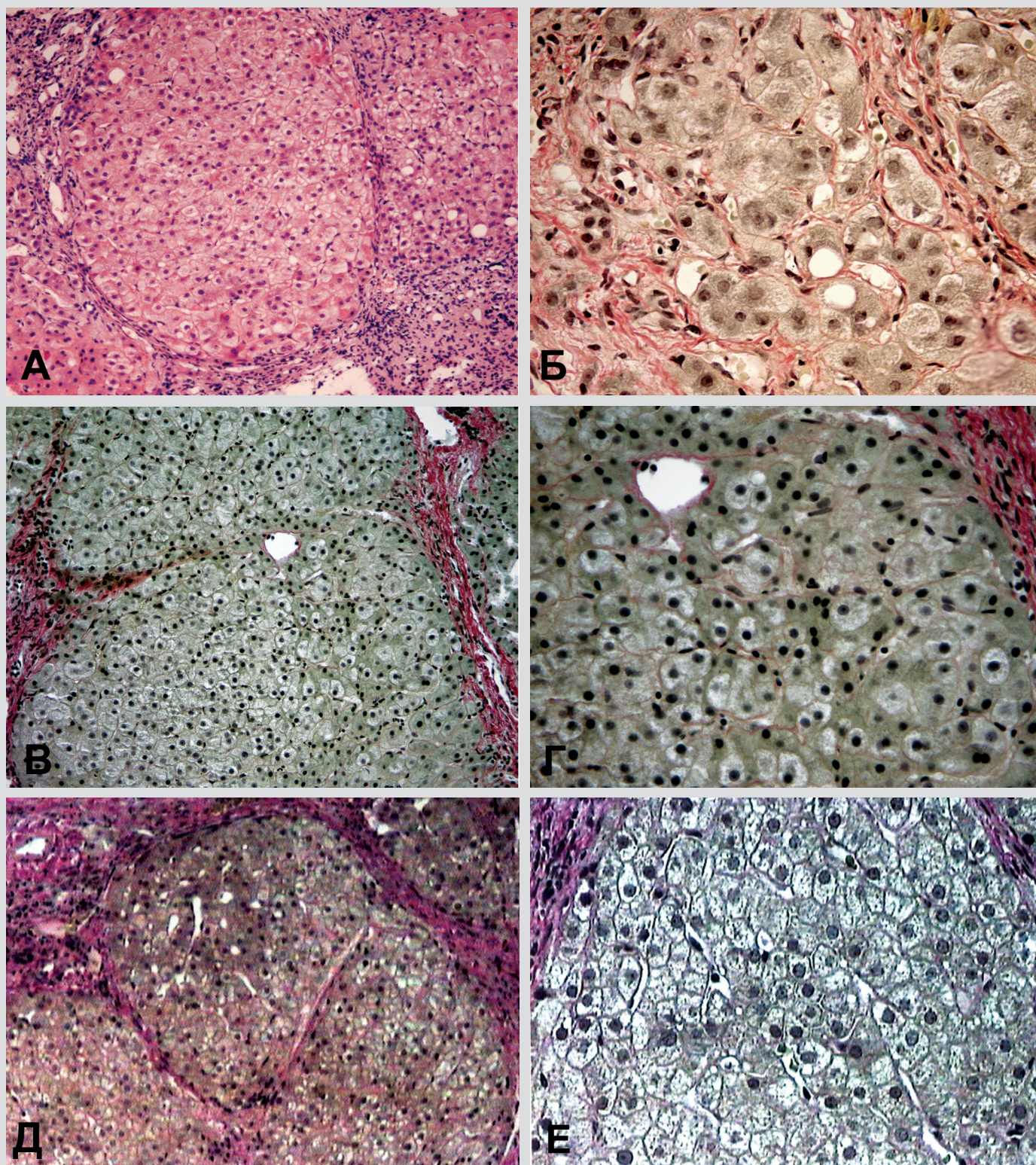


Рис. 4. Биоптаты печени пациентки Л.: А, Б – 2006 г.; В, Г – 2007 г.; Д, Е – 2008 г.
Окраска: А – гематоксин и эозин; Б–Д – по Ван Гизону.
Ув.: А, В, Д – $\times 100$; Б – $\times 600$; Г, Е – $\times 400$

расширение вен пищевода 2 ст. Тромбоцитопения легкой степени. Печеночная недостаточность 1 ст. Печеночная энцефалопатия 1 ст. Асцит», в связи с чем был назначен курс лечения (Урсосан 500 мг 3 р./д., Карсил 1 таб. 3 р./д., Верошпирон 25 мг 3 р./д., Дюфалак 10 мл 3 р./д., Мезим 1 таб. 3 р./д.; инфузии альбумина, кристаллоидов, лазикса).

На фоне описанного лечения состояние больной стабилизировалось, самочувствие улучшилось, асцит регрессировал. Тем не менее, на момент выписки 28.03.2006 г. и при последующем осмотре 10.05.2006 г. сохранялись клинические и доплерографические признаки портальной гипертензии, варикозное расширение вен пищевода, тромбоцитопения и печеночная энцефалопатия 0–1 ст.

10.05.2006 г. пациентка повторно госпитализирована в гастроэнтерологическое отделение. Проводилось консервативное лечение по прежней схеме. В связи с отсутствием клинического эффекта от лечения, для профилактики пищеводного кровотечения и замедления фиброза, а также с учетом возраста и нежелательности гормональной терапии, пациентке 12.05.2006 г. в хирургическом отделении была выполнена РЭРКСА и инфузия перфторана в селезеночную артерию. В течение 3 сут. состояние и самочувствие пациентки улучшилось, варикоз вен пищевода уменьшился до 1 ст., исчезли проявления печеночной недостаточности и энцефалопатии, нормализовались доплерографические показатели портального бассейна.

В период с 05.2006 по 12.2007 г. состояние и самочувствие больной оставалось стабильно удовлетворительными. При очередном осмотре 12.2007 г. показатели портального кровотока были в пределах нормы, однако установлена 1 ст. энцефалопатии и жалобы на снижение качества жизни, утомляемость, общую слабость. Учитывая клиническую картину, низкую эффективность предшествовавшего лечения, возраст пациентки ей было предложено выполнение инфузии перфторана и разъяснена целесообразность аутогенной цитотрансфузии ММСК для нормализации функции печени и замедления фиброза, а также потенциальные побочные эффекты и осложнения. Получено добровольное информированное согласие на проведение манипуляций. Пациентка госпитализирована в хирургическое отделение, ей выполнена инфузия перфторана и цитотрансфузия 10×10^6 ММСК в селезеночную артерию; при этом дополнительным показанием для введения перфторана было предупреждение РТПХ. Через 15 мин. после операции выполнена повторная биопсия печени (рис. 4 В, Г).

При патогистологическом исследовании биоптата выставлено следующее заключение (12.2007): Цирроз печени (ИГА=2+2+2+6 (по K. Ishak, (1995); что свидетельствует о некотором уменьшении некроза и дистрофии гепатоцитов. Отмечается некоторое уменьшение фиброза гепатоцитов в ложных дольках (см. рис. 4 Г). В течение нескольких дней после операции отмечено улучшение самочувствия и качества жизни, практически полный регресс симптомов энцефалопатии, общей слабости и утомляемости. Признаки ослабления печеночной недостаточности отсутствовали вплоть до 11.2008 г.

12.11.2008 г. выполнена очередная операция (инфузия перфторана и цитотрансфузия 10×10^6 ММСК непосредственно в портальную вену). Показанием к операции послужили плановое введение перфторана и некоторое ухудшение качества жизни и общая слабость. После операции в течение недели эти жалобы полностью

регрессировали и отсутствуют до настоящего времени. Через 24 ч после операции выполнена биопсия печени (рис. 4 Д, Е).

Патогистологическое исследование биоптата показало стабилизацию процесса цирротической перестройки органа: цирроз печени (ИГА=2+1+1+6 (по K. Ishak, (1995); при этом отмечается почти полное отсутствие фиброза внутри ложных долек (см. рис. 4 Е) на фоне выраженной гидропической дистрофии гепатоцитов.

В настоящее время состояние больной удовлетворительное. Она ведет активный образ жизни (регулярно играет в большой теннис, занимается в тренажерном зале, бывает на морских курортах, ведет полноценную семейную жизнь), социально полностью адаптирована.

9.06.2009 г. больной выполнена в плановом порядке очередная инфузия перфторана в портальную вену; следующая плановая операция и гепатобиопсия планируется в декабре 2009 г..

Таким образом, пациентка Л. перенесла по поводу своего заболевания 1 эмболизацию селезеночной артерии, четырехкратное введение перфторана в портальный тракт (два раза — в селезеночную артерию, два раза — в портальную вену), двукратное введение аутогенных ММСК на фоне введения перфторана (один раз — в селезеночную артерию, один раз — в портальную вену). На фоне лечения отмечена положительная динамика, подтвержденная клинически, биохимически (табл. 4) и морфологически.

Таблица 4. Лабораторные показатели пациентки Л.

Показатели	02. 2006	05. 2006	08. 2007	11. 2008	06. 2009
<i>Общий анализ крови</i>					
Эритроциты ($10^{12}/л.$)	3,4	2,9	3,7	3,66	3,87
Лейкоциты ($10^9/л.$)	6,6	4,44	5,2	2,54	3,9
Лимфоциты ($10^9/л.$)	1,6	—	1,4	1,4	1,0
Тромбоциты ($10^9/л.$)	77,9	166	174	128	129
<i>Биохимические анализы крови</i>					
Креатинин (мкмоль/л.)	56,6	53,2	69	—	81
Мочевина (ммоль/л.)	1,84	2,76	2,9	3,87	2,55
Билирубин общий (мкмоль/л.)	101	43,2	15,9	27	23
Билирубин прямой (мкмоль/л.)	59,6	—	6,1	6,2	—
АлАТ (ед./л.)	32,4	46,6	16	12	16
АсАТ (ед./л.)	96,1	59,2	26	24	23
Протромбиновый индекс	76,2	59,5	77	—	81,3
Калий (ммоль/л.)	4,05	—	—	3,7	4,4
Натрий (ммоль/л.)	—	—	—	139	142
Белок общий (г/л.)	69,9	76	77	73,8	75,9
Альбумин (%)	34,7	—	45	—	60,3

Выводы

Впервые в клинических условиях разработан и применен комплексный способ лечения ХДЗП, основанный на введении ММСК в портальный тракт, с предварительной коррекцией портального кровотока посредством дозированной редукции кровотока в селезеночной артерии, на фоне регионарного введения ПЗ с целенаправленным формированием перфторософогов в органе-мишени. Продемонстрирована эффективность и безопасность такого способа лечения.

Клетки, трансфузированные совместно с ПЗ в селезеночную артерию, преодолевают селезенку и достигают печени, где некоторое время находятся в синусоидах; часть из них при этом сохраняет свою жизнеспособность.

Мы полагаем, что сочетанное использование трех различных способов воздействия на процесс ХДЗП более эффективно, за счет синергического эффекта. Так, редукция и замедление кровотока в портальной системе улучшает функциональное состояние паренхимы

печени, что обеспечивает лучшие условия для хоуминга и прогрессивного развития ММСК в печени. Кроме того, нормализация портального кровотока обеспечивает, за счет эффекта «первого прохождения», более полную имплантацию ММСК именно в печень, как в орган-мишень. В свою очередь, положительный эффект применения ММСК позволяет замедлить развитие ХДЗП и увеличить «светлый период» между повторными РЭКСА. На фоне этих событий применение ПЗ с целенаправленной имплантацией ПЗ в СМФ печени может обеспечить иммунопревентивное действие в отношении ММСК, одновременно обеспечивая лучшие условия для их имплантации за счет оксигенации зоны трансплантации и улучшения эффекта РЭКСА.

Полученные результаты пилотного клинического исследования позволяют рассматривать возможность подачи заявки на регистрацию соответствующей медицинской технологии и проведение расширенных клинических испытаний разработанного метода лечения хронических диффузных заболеваний печени.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей / Под редакцией В.Т. Ивашкина. М.: ООО «Издательский Дом «М-Вести» 2005.
2. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей. М.: Геотар Медицина 1999.
3. Wu J., Kuncio G.S., Zern M.A. Human liver growth in fibrosis and cirrhosis. *Liver Growth and Repair: from Basic Science to Clinical Practice*. London UK: Chapman & Hall 1998: 558-76.
4. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука 1983.
5. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. М.: Изд-во АМН СССР 1991.
6. Маянский Д.Н., Кутина С.Н., Шварц Я.Ш. и др. Kupffer cell responsiveness in liver fibrosis. In: *Cells of hepatic sinusoid*. Eds. Wisse E., Knook D., Decker K.; 1989: 88-90.
7. Маянский Д.Н., Виссе Э., Декер К. Новые рубежи гепатологии. Новосибирск: Изд-во РАМН, Сибирское отделение 1992.
8. Bachem M.G., Meyer D., Melchior R. et al. Activation of rat liver perisinusoidal lipocytes by transforming growth factors derived from myofibroblastlike cells. A potential mechanism of self perpetuation in liver fibrogenesis. *J. Clin. Invest.* 1992; 89(1): 19-27.
9. Gressner A.M. The cell biology of liver fibrogenesis - an imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts. *Cell and Tissue Res.* 1998; 292(3): 447-52.
10. Gressner A.M., Hoffmann C., Bachem M.G. et al. The contribution of hepatocytes to cytokine-directed activation of fat-storing cells - a pathogenetic key mechanism in liver fibrogenesis. In: *Cytokines and the Liver. Proceedings of the 78th Falk Symposium* 1995. Netherlands; 58-80.
11. Albanis E., Friedman S.L. 2001. Hepatic fibrosis. Pathogenesis and principles of therapy. *Clin. Liver Dis.* 5: 315-334, v-vi.
12. Geerts A. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. *Semin. Liver Dis.* 2001; 21: 311-35.
13. Batailler R., Brenner, D.A. Hepatic stellate cells as a target for the treatment of liver fibrosis. *Semin. Liver Dis.* 2001; 21: 437-51.
14. Popper H., Uenfriend S. Hepatic fibrosis. Correlation of biochemical and morphologic investigations. *Am. J. Med.* 1970; 49: 707-21.
15. Friedman S.L., Roll F.J., Boyles J., Bissell D.M. Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985; 82: 8681-5.
16. Белоярцев Ф.Ф. Перфторированные углеводы в биологии и медицине. Пушино 1980: 5-21.
17. Голубев А.М., Белоярцев Ф.Ф., Васильев А.З. и др. Реакции биологических систем при замещении крови эмульсиями фторуглеродов. Москва, 1993.
18. Инструкция по применению перфторана. Министерство Здравоохранения и медицинской промышленности РФ: лицензия № 64/396/97 от 21.04.97 г. Приказ МЗ РФ № 50 от 13.02.96 г. - Регистрационный № 96/50/10. Утверждено Фармакологическим Государственным Комитетом 24 июня 1999 г.
19. Moore R.E., Clark L.C. Synthesis and Physical Properties of Perfluorocompounds Useful as Synthetic Blood Candidates. *Perfluorochemical Blood Substitute*; 5th Int. Symp.; Mainz, 1981. Munchen 1982: 50-60.
20. Далгатова Г.Д., Меджидов Р.Т., Алкадарский А.С. и др. Применение перфторуглеродных эмульсий для лечения

постнекротического цирроза печени в эксперименте (предварительные результаты). Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. Всеармейская научная конференция 22-24.10.1999. СПб.: ВМедА, 1999: 20-1.

21. Далгатова Г.Д., Меджидов Р.Т., Алкадарский А.С. Перфторофагальный гранулематоз против фиброза? Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. Всеармейская научная конференция 22-24.10.1999. СПб.: ВМедА, 1999: 23-8.

22. Далгатова Г.Д., Меджидов Р.Т. Средство для лечения и профилактики патологического разрастания соединительной ткани в паренхиматозных органах. Патент РФ на изобретение № 2146133, 06.07.96.

23. Журавлев В.А., Распутин П.Г., Золотарев А.Г., Косых А.А. Ультраструктура гепатоцитов патологически измененной печени после частичной гепатэктомии с использованием перфторана. Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. Всеармейская научная конференция 8-9.10.1997. СПб.: ВМедА, 1997: 43-4.

24. Leskova G.F., Michunskaya A.B., Kobozova L.P., Klimenko E.D. Influence of Perforan on Structural and Metabolic Disturbances in the Liver during Exp. Atherosclerosis. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2003; 136(4).

25. Распутин П.Г. Применение эмульсий перфторорганических соединений в резекционной хирургии печени (экспериментально-клиническое исследование). Автореф. ... д-ра мед. наук. Киров 2000: 18.

26. Далгатова Г.Д., Зубрицкий В.Ф., Бакулин И.Г. и др. Клиническая апробация феномена фагоцитоза перфторуглеродной эмульсии в лечении цирроза печени. *Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* Приложение №28. Мат-лы 12 Российской Гастроэнтерологической недели 16-18 октября 2006 Москва; 2006; 16(5): 76.

27. Зубрицкий В.Ф., Далгатова Г.Д., Черкасов В.А. и др. Рентгенэндоваскулярный метод лечения цирроза. *Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* Приложение №32. Мат-лы 14 Российской Гастроэнтерологической недели 6-8 октября 2008 Москва; 2008; 18(5): 179.

28. Далгатова Г.Д., Меджидов Р.Т., Мадиева М.Н., Шахназарова М.Д. Применение перфторуглеродных соединений для профилактики соединительнотканых сращений. Патент РФ на изобретение № 2161959, 01.10.96.

29. Далгатова Г.Д. Проблема тканевой оксигенации в лечении гнойных ран. Дисс. ... д-ра мед. наук. М. 2001.

30. Голубев А.М., Леонтьева Г.Л., Коркмасова М.Л. и др. Морфофункциональные особенности и фагоцитарная активность системы фагоцитарных клеток перитонеального экссудата крыс после внутрибрюшинного введения перфторана. Физиологическая активность фторсодержащих соединений (эксперимент и клиника). Пушино: ОНТИ ПНЦ РАН 1995.

31. Гусейнов А.-К.Г., Мороз В.В., Голубев А.М., Гусейнов А.Г. Применение перфторана в лечении распространенного гнойного перитонита. // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и классической медицине. Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. Всеармейская научная конференция 22-24.10.1999. СПб.: ВМедА, 1999: 19.

32. Применение перфторуглеродной эмульсии «Перфторан» в комплексной терапии больных тяжелыми формами вирусного гепатита и микст-гепатитов. Методические рекомендации. СПб.: ВМедА; 2003.
33. Светлов В.Н., Палагин В.А. Применение перфторана при осложненных формах вирусного гепатита (предварительное сообщение). Физиологическая активность фторсодержащих соединений (эксперимент и клиника). Пуцино: ОНТИ ПНЦ РАН 1995: 224.
34. Хохлова М.П., Логонова Л.Н., Гласко Е.Н. Морфологическая оценка реакции систем мононуклеарных фагоцитов при введении различных перфторорганических соединений в эксперименте. Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. Пуцино: ОНТИ НЦБИ АН СССР 1983: 151-7.
35. Шехтман Д.Г., Сафронова В.Г., Склифас Л.Я. и др. Модифицирующее действие эмульсий ПФОС и других корпускулярных сред на активность нейтрофилов. Перфторорганические соединения в биологии и медицине. Пуцино: ОНТИ ПНЦ РАН 1997.
36. Киясов А.П., Одинова А.Х., Гумерова А.А. и др. Трансплантация аутогенных гемопоэтических стволовых клеток больным хроническими гепатитами. Клет. транспл. тканевая инженер. 2008; 3(1): 70-5.
37. Fang B., Shi M., Liao L. et al. Systemic infusion of FLK1(+) mesenchymal stem cells ameliorate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice. Transpl. 2004; 78(1): 83-8.
38. Gagandeep S., Rajvanshi P., Sokhi R.P. et al. Transplanted hepatocytes engraft, survive, and proliferate in the liver of rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. J. Pathol. 2000; 191(1): 78-85.
39. Исаев А.А., Мелихова В.С. Применение клеток пуповинной крови в клинической практике. Клет. транспл. тканевая инженер. 2008; 3(1): 34-41.
40. Sakaida I., Tera S., Nishina H., Okita K. Development of cell therapy using autologous bone marrow cells for liver cirrhosis. Med. Mol. Morphol. 2005; 38(4): 197-202.
41. Yannaki E., Athanasiou E., Xagorari A. et al. G-CSF-primed hematopoietic stem cells or G-CSF per se accelerate recovery and improve survival after liver injury, predominantly by promoting endogenous repair programs. Exp. Hematol. 2005; 33(1): 108-9.
42. Levinar N., Pai M., Habib N.A. et al. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34⁺ cells in patients with chronic liver disease. Cell Prolif. 2008; 41 (Suppl. 1): 115-25.
43. Hagihara M., Shimura T., Takebe K. et al. Effects of iso and xeno fetal liver fragments transplantation on acute and chronic liver failure in rats. Cell Transpl. 1994; 3(4): 283-90.
44. Kanai N., Hagihara M., Nagamachi Y., Tsuji K. Beneficial effects of immunisolated fetal and neonatal pig liver fragments on acute liver failure in a large animal. Cell Transpl. 1999; 8(4): 413-7.
45. Kanai N., Morita N., Munkhbat B. et al. In vitro and in vivo grafting of xeno pig fetal liver fragments using ultrafiltration membrane. Cell Transpl. 1998; 7(4): 417-20.
46. Брюховецкий А.С., Зубрицкий В.Ф. и др. Регионарная перфузионная защита нейротрансплантата. Биол. эксперим. биологии и медицины 1998; 126 (Прилож. 1): 29-31.
47. Брюховецкий А.С. Трансплантация нервных клеток и тканевая инженерия мозга при нервных болезнях. М.: ЗАО «Клиника восстановительной интервенционной неврологии и терапии «Нейровита» 2003.
48. Fang B., Song Y., Lin Q. et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells as salvage therapy for treatment of severe refractory acute graft-vs.-host disease in two children. Ped. Transpl. 2007; 11: 814-17.
49. Гранов А.М., Борисов А.Е. Эндоваскулярная хирургия печени. Л.: Медицина 1986.
50. Зубарев П.Н. Развитие идеи хирургического лечения больных портальной гипертензией в Военно-Медицинской Академии Актовая речь в день 202-й годовщины Академии. СПб.: ВМедА 2000: 24.
51. Котив Б.Н. Эмболизация селезеночной артерии у больных с гиперспленизмом на фоне портальной гипертензии. Ангиология и сосудистая хирургия 2002; 3 (Прилож.): 6.
52. Зубрицкий В.Ф. Регионарная внутриартериальная перфузия и малоинвазивная рентгенохирургия локальных патологических процессов: Дисс. ... д-ра мед. наук. СПб. 2000.
53. Зубрицкий В.Ф., Далгатова Г.Д., Зайцева И.В. и др. Доплерографический мониторинг портального кровотока после эмболизации селезеночной артерии. Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопрокт. Приложение №32. Мат-лы 14 Российской гастроэнтерологической недели 6-8 октября 2008 Москва; 2008; 18(5): 171.
54. Пулин А.А. Выбор оптимальных методов культивирования и трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток Автореф. ... д-ра мед. наук. Москва 2008.
55. Миронов А.А., Комиссарчик Я.В., Миронов В.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине: метод. Руководство. СПб.: Наука 1994.
56. Di Nicola M., Carlo-Stella C, Magni M. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. Blood 2002; 99: 3838-43.
57. Tse W.T., Pendleton J.D., Beyer W.M. et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. Transpl. 2003; 75(3): 389-97.
58. Carvalho A.B., Quintanilha L.F., Dias J.V. et al. Bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells do not reduce fibrosis or improve function in a rat model of severe chronic liver injury. Stem Cells 2008; 26(5): 1307-14.
59. Zheng J.F., Liang L.J. Intra-portal transplantation of bone marrow stromal cells ameliorates liver fibrosis in mice. Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2008; 7(3): 264-70.
60. Чирский В.С. Биопсийная диагностика неопухолевых поражений печени. СПб.: МАПО 2009.

Поступила 18.05.2009