



¹ Городская
клиническая больница
им. С.П. Боткина,
Москва

² Российская
медицинская академия
непрерывного
профессионального
образования, Москва

³ Первый Московский
государственный
медицинский
университет
им. И.М. Сеченова
(Сеченовский
университет)

Коррекция гепатоцеллюлярной недостаточности путем внутривенного введения моноклеарных клеток аутологичного костного мозга при циррозе печени: опыт ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ

А.В. Шабунин, академик РАН, д.м.н., проф.^{1,2}, В.В. Бедин, д.м.н.^{1,2},
Ч.С. Павлов, д.м.н., проф.^{1,3}, О.Н. Левина, к.м.н.¹, П.А. Дроздов, к.м.н.^{1,2},
Ю.А. Олейник¹, Г.М. Чеченин, к.м.н.^{1,2}, В.А. Цуркан¹

Адрес для переписки: Оксана Николаевна Левина, levinaoks@mail.ru

Для цитирования: Шабунин А.В., Бедин В.В., Павлов Ч.С. и др. Коррекция гепатоцеллюлярной недостаточности путем внутривенного введения моноклеарных клеток аутологичного костного мозга при циррозе печени: опыт ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ. Эффективная фармакотерапия. 2023; 19 (43): 76–80.

DOI 10.33978/2307-3586-2023-19-43-76-80

Гепатоцеллюлярная недостаточность является одним из основных проявлений цирроза печени. В настоящее время компенсация белково-синтетической функции печени возможна только путем проведения заместительной терапии или радикальной операции – трансплантации печени. В течение последних десятилетий ведется поиск способов лечения печеночной недостаточности, в том числе связанных с использованием клеточной терапии. В литературе имеются данные, указывающие на положительные эффекты введения моноклеарных клеток аутологичного костного мозга для коррекции клинических проявлений острой и хронической печеночной недостаточности. Данное клиническое наблюдение демонстрирует безопасность и клиническую эффективность внутривенного введения моноклеарных клеток аутологичного костного мозга, полученных путем афереза после стимуляции гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором.

Ключевые слова: моноклеарные клетки аутологичного костного мозга, клеточная терапия, стволовые клетки, гепатоцеллюлярная недостаточность, внутривенное введение, цирроз печени, трансплантация печени

Введение

Цирроз печени (ЦП) – это диффузный процесс, характеризующийся фиброзом и трансформацией нормальной структуры печени с образованием узлов. ЦП представляет собой финальную стадию большинства хронических диффузных заболеваний печени [1]. По данным ВОЗ, смертность от заболеваний печени в мире в 2016 г. составила 40,3 человек на 100 тыс. населения. Летальность от ЦП различной этиологии и его осложнений в Москве в 2021 г. составила 1810 случаев – 48,6% от всех летальных исходов, связанных с заболеваниями органов пищеварения. Внутрибольничная смертность от ЦП превышает об-

щегоспитальную в 7,2 раза. Таким образом, бремя летальности от осложнений ЦП диктует необходимость поиска новых способов лечения печеночной недостаточности. Наиболее эффективным и зачастую единственным радикальным методом лечения больных с терминальной стадией хронических заболеваний печени служит трансплантация печени [2]. В связи с совершенствованием трансплантологической помощи показания к включению в лист ожидания расширяются, как следствие, возрастает неравенство между растущим числом пациентов, нуждающихся в лечении, и сохраняющимся «плато» числа трансплантатов, взятых от умерших доноров, что



приводит к увеличению длительности ожидания [3, 4]. От 4,95 до 22,3% пациентов ежегодно выбывают из листа ожидания по причине смерти (UNOS, 2011 [4]). Летальность среди реципиентов, ожидающих пересадки печени, по данным С.В. Готье, достигает 57,4%. Длительность нахождения пациентов в листе ожидания часто превышает два года, а летальность на сегодня в ряде регионов превышает 40% [5].

Коррекция печеночной недостаточности является одной из сложнейших проблем у пациентов на стадии ЦП. В России для лечения ЦП наиболее часто назначаются гепатопротекторы, эффективность которых для коррекции гепатоцеллюлярной недостаточности спорна и требует проведения дальнейших исследований [6–8]. Применение этой группы препаратов как на стационарном, так и на амбулаторном этапах лечения пациентов с ЦП является предметом дискуссий [6].

В мире постоянно ведется поиск новых способов восстановления синтетической функции печени. В настоящее время в клиническую практику внедрены молекулярные абсорбирующие рециркулирующие системы (MARS) и модули для сепарации и адсорбции фракционированной плазмы (FPSA), протезирующие белково-синтетическую функцию печени, однако применение этих методов ограничивается высокой стоимостью и кратковременным клиническим эффектом [9].

Перспективным методом коррекции гепатоцеллюлярной недостаточности представляется использование клеточной терапии, основанной на применении регенеративного потенциала стволовых клеток взрослого организма для лечения ряда тяжелых заболеваний, в том числе ЦП [10–14]. Установлено, что введение мезенхимальных и мононуклеарных стволовых клеток способно индуцировать дедифференцировку зрелых гепатоцитов в овальные клетки, экспрессирующие маркеры стволовых и родоначальных клеток печени и способные к созреванию в пролиферирующие гепатоциты [2, 15, 16]. По данным ресурса clinicaltrials.gov, к 2022 г. зарегистрировано 132 клинических исследования, направленных на исследование эффективности применения стволовых клеток при патологии печени. По результатам большинства исследований, клинические эффекты введения клеток оцениваются авторами как положительные, что позволяет считать применение клеток костного мозга безопасным и перспективным методом лечения печеночной недостаточности [12, 13, 17–24].

Клинический случай

Пациентка П., 38 лет, в сентябре 2021 г. госпитализирована с жалобами на иктеричность кожи и склер, увеличение размеров живота, слабость, сонливость. Два года назад при развитии первого эпизода декомпенсации цирроза зафиксировано наличие асцита, желтухи, печеночной энцефалопатии, что послужило основанием для экстренной госпитализации. Установлен диагноз острого алкогольного гепатита на фоне цирроза печени смешанного генеза (вирусный гепатит С, алкогольный). В стационаре проведена терапия преднизолоном в стартовой дозе 5 мг/кг в сутки с последующим снижением и отменой. С января 2020 г. пациентка полностью отказалась от употребления

алкоголя (шкала AUDIT – 4 балла). В течение последующих 18 месяцев было трижды проведено стационарное лечение в связи с нарастанием желтухи и асцитического синдрома. В июне 2021 г. при очередной госпитализации проведено лигирование варикозного расширения вен пищевода (ВРВП) второй степени. В июле 2021 г. консультирована в центре лечения вирусных гепатитов Инфекционной клинической больницы № 1, выявлена репликация вируса гепатита С и проведена противовирусная терапия софосбувиром и даклатасвиром с последующим достижением вирусологического ответа. В связи с сохраняющейся гепатоцеллюлярной недостаточностью рекомендована консультация трансплантолога. После дообследования пациентка включена в лист ожидания на трансплантацию печени. В ноябре 2021 г. после получения согласия этического комитета РМАНПО на проведение клинического исследования внутриворотного введения мононуклеарных клеток аутологичного костного мозга пациентке предложено участие в протоколе исследования. После подписания информированного согласия и подтверждения наличия ультразвукового окна проведена пункция воротной вены. Предварительно оценены исходный статус больной: Child – Pugh – Turcotte – класс С, MELD-Na – 18 баллов, исходное качество жизни по опроснику SF-36: физическое и психическое здоровье – 38 и 42 балла соответственно. На стационарном этапе проведено лечение: альбумин 25% – 100 мл в/в ежедневно в течение семи суток, трансфузия свежзамороженной плазмы – три дозы, таблетки спиринолактон 300 мг/сут, таблетки фуросемид 40 мг утром ежедневно, таблетки метронидазол 500 мг для деконтаминации кишки с целью снижения степени печеночной энцефалопатии (на амбулаторном этапе пациентка в течение трех недель принимала таблетки рифаксимин 1200 мг/сут без значимого клинического эффекта). Первым этапом проведена стимуляция костного мозга путем введения гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора в дозе 900 мкг/сут в течение четырех суток, введение препарата не сопровождалось побочными эффектами. На четвертые сутки в общем анализе крови отмечалось повышение уровня лейкоцитов до $24,5 \times 10^9/\text{л}$, методом проточной цитофлуориметрии выявлена достаточная концентрация CD34+, после чего в условиях отделения трансплантации костного мозга проведена установка туннельного катетера (в кубитальную вену), путем афереза с использованием сепаратора Spectra Optia проведена мобилизация мононуклеарных клеток (МНК) аутологичного костного мозга из периферической крови. Полученная культура клеток в условиях термоконтейнера была направлена в лабораторию, где выполнен качественный анализ МНК аутологичного костного мозга и популяции CD34+ с оценкой их жизнеспособности при проточной цитофлуориметрии, ресуспензирование МНК с последующей шоковой заморозкой.

Через двое суток в операционной под местной анестезией после пункционной биопсии печени под УЗ-наavigацией выполнена пункция воротной вены. В стволе воротной вены установлен катетер, выполнена портография 20 мл водорастворимого контрастного препарата, определена оптимальная скорость введения МНК –

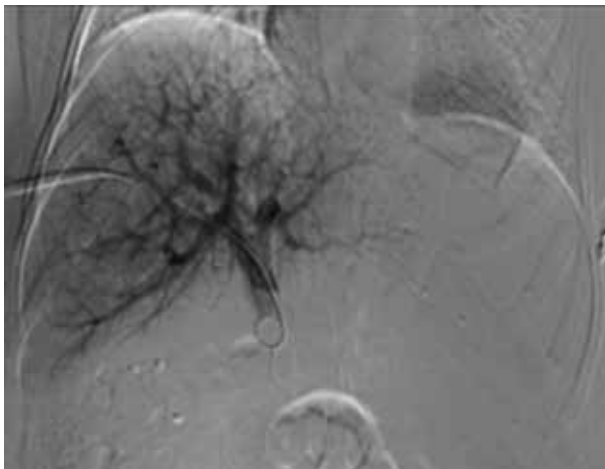


Рис. 1. Портография с определением оптимальной скорости введения МНК



Рис. 2. Портография со скоростью введения 1,0 мл/с

1,0 мл/с (рис. 1, 2). После введения 87,5 мл суспензии МНК выполнена пломбировка канала гемостатической губкой. Вмешательство и последующий послеоперационный период пациентка перенесла удовлетворительно. Через 24 часа проведено контрольное ультразвуковое исследование – признаков кровотечения не выявлено. Выписана на вторые сутки в стабильном состоянии. При гистологическом исследовании ткани печени определяются выраженная диффузная лимфоцитарная инфильтрация, формирование ложных долек, признаки активного цирроза печени по METAVIR A2F4 (рис. 3).

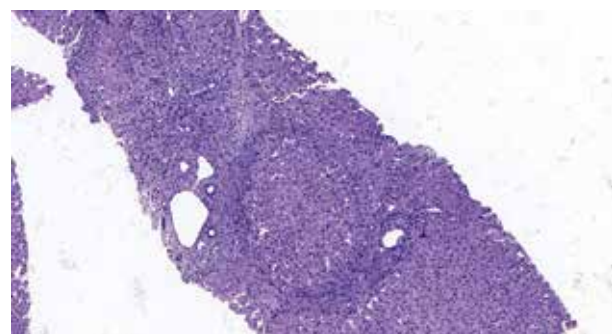


Рис. 3. Выявленная диффузная лимфоцитарная инфильтрация, формирование ложных долек. Активный цирроз печени. METAVIR A2F4

Таблица 1. Динамика лабораторных показателей на протяжении трех месяцев наблюдения

Показатель	До лечения	После стимуляции	Через две недели	Через восемь недель
Гемоглобин, г/л	122	120	126	123
Гематокрит, %	36,4	37,1	39,1	38,2
Эритроциты, $\times 10^{12}$ /л	3,68	3,65	4,61	4,62
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л	85	60	68	74
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	5,26	24,5	5,27	6,1
Лимфоциты, $\times 10^9$ /л	0,98	0,91	0,92	1,2
Нейтрофилы, $\times 10^9$ /л	3,53	3,24	3,01	3,4
Моноциты, $\times 10^9$ /л	0,42	0,41	0,38	0,32
Глюкоза, ммоль/л	5,5	5,3	4,8	5,2
Мочевина, ммоль/л	3,62	4,78	6,21	5,56
Креатинин, мкмоль/л	64,2	67,3	65,7	72
Билирубин, мкмоль/л	75,9	59,2	28,2	36,2
АЛТ, ед/л	57	68	47	53
АСТ, ед/л	109	105	62	60
ГГТП, ед/л	142	156	114	124
ЩФ, ед/л	205	212	165	164
Калий, ммоль/л	4,01	3,69	4,03	4,02
Натрий, ммоль/л	139	132	134	136
Общий белок, г/л	59	58	65	64
Альбумин, г/л	26	30	34	33
ПТИ по Квику, %	44	66	72	68
МНО	1,75	1,36	1,17	1,14

После выписки из стационара проведена консервативная терапия таблетками спиронолактон 100 мг/сут, L-орнитин-L-аспартат, лактулоза, β -адреноблокаторами с целью профилактики кровотечений из ВРВП. Удалось отказаться от приема петлевых диуретиков, прогрессирования отечно-асцитического синдрома в течение периода наблюдения не отмечено. При динамической оценке лабораторных показателей обращают на себя внимание стойкое повышение уровня альбумина, нормализация свертывающей функции печени, снижение холестатической активности (табл. 1). В последующем был проведен плановый осмотр через 14 дней и восемь недель с оценкой MELD-Na, СТР и качества жизни, повторной госпитализации не потребовалось. Отмечено снижение MELD-Na на 10 баллов в течение восьми недель, снижение класса Child – Pugh – Turcotte через 10 дней (табл. 2). В течение восьми недель наблюдения отмечено улучшение качества жизни в связи с увеличением физической активности, уменьшением количества лекарственных препаратов и частоты госпитализаций (табл. 3). Через 12 недель пациентка перенесла ортотопическую трансплантацию печени. В посттрансплантационном периоде осложнений не отмечено. При гистологическом исследовании ткани печени отмечается выраженная положительная динамика: снижение активности воспаления в виде уменьшения лимфоидной инфильтрации пор-



Таблица 2. Оценка эффективности введения МНК по шкалам MELD и Child – Pugh – Turcotte

Шкала	MELD-Na	Child – Pugh – Turcotte
Исходно	18	12 (С)
Через 10 дней	13	8 (В)
Через восемь недель	12	9 (В)

тальных трактов, дольковое и трабекулярное строение печени в исследованных препаратах сохранено (рис. 4).

Обсуждение

Развитие гепатоцеллюлярной недостаточности обусловлено преобладанием процессов некроза или апоптоза гепатоцитов в результате воспаления над их регенерацией. Регуляция процесса воспаления и последующей прогрессии фиброза в ткани печени осуществляется резидентными иммунокомпетентными клетками. Истощение пула резидентных клеток приводит к неконтролируемой прогрессии воспаления с формированием последовательных стадий фиброза и в итоге цирроза [10]. Таким образом, имеется патогенетическое обоснование гипотезы, что культура аутологичных полипотентных стволовых клеток может брать на себя функцию фагоцитоза и регуляции, сдвигая баланс профиброгенных факторов в сторону прекращения воспаления и стимуляции регенерации гепатоцитов [12–14, 20]. Еще одним основанием ожидаемого клинического эффекта при введении клеток являются данные проведенных ранее исследований с использованием иммуногистохимического метода у пациентов с вирусными поражениями печени до и после окончания противовирусной терапии, указывающие на потенциальную обратимость стадии цирроза [18]. При наличии выраженной портальной гипертензии, ассоциированной с риском развития геморрагических осложнений, трансплантация печени по-прежнему остается золотым стандартом лечения, и внутрипортальное введение мононуклеарных клеток аутологичного костного мозга является в настоящий момент эффективным методом для снижения летальности в листе ожидания и улучшения качества жизни пациентов с циррозом печени.

Отдельного обсуждения заслуживает совершенствование протокола получения культуры клеток: проведение трепанбиопсии для получения достаточного количества МНК сопряжено как с болевыми ощущениями, так и с высоким риском ассоциированных осложнений у пациентов с признаками коагулопатии и белково-синтетической недостаточности, в то время как сепарация клеток из периферической крови не сопровождается дополнительными рисками, в связи с чем представляется наиболее обосно-

Таблица 3. Оценка качества жизни SF-36 в динамике

Период наблюдения	Физическое здоровье	Психическое здоровье
Исходно	38	42
Через восемь недель	46	48

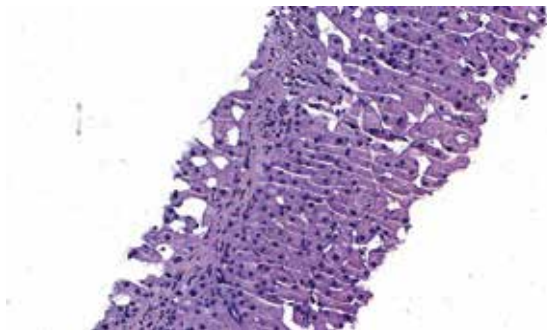


Рис. 4. Дольковое и трабекулярное строение печени сохранено. Очаговая лимфоцитарная инфильтрация портальных трактов. METAVIR A2F2

ванным методом. При выборе пути введения клеток, по результатам обзора литературы, вариант внутрипортального введения клеток с предварительной портофлюометрией позволяет минимизировать потери суспензии МНК. Ключевым фактором, позволившим оптимизировать методику внутрипортального введения МНК, явилась многопрофильность стационара, позволившая реализовать все этапы клеточной терапии в одном учреждении.

Заключение

Клиническое наблюдение демонстрирует безопасность и эффективность представленного способа коррекции гепатоцеллюлярной недостаточности. Персонализированный подход на всех этапах – от стимуляции гранулоцитопоза до внутрипортального введения МНК – позволил достигнуть значимого снижения MELD-Na, улучшения качества жизни, снижения объема лекарственной терапии в процессе нахождения в листе ожидания трансплантации печени. По данным морфологического исследования, подтверждено снижение активности воспаления и ремоделирование ткани в сторону регресса фиброза печени. По мере включения пациентов в проводимое научное исследование будут изучены эффективность и безопасность предложенного метода терапии данной группы больных. По результатам работы планируется сформулировать практические рекомендации по применению метода в клинической практике. ☉

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Литература

1. Цирроз и фиброз печени: клинические рекомендации (утв. Министерством здравоохранения РФ, 2021).
2. The European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis. J. Hepatol. 2018.
3. Готье С.В., Хомяков С.М. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2019 году. XII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2020; 22 (2): 8–34.
4. European Liver Transplant Registry. <http://www.eltr.org/>.
5. Александров В.Н., Камилова Т.А., Калюжная Л.И. и др. Клеточная терапия цирроза печени. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2014; 1 (45): 197–202.



6. Готье С.В. Трансплантация печени в России: 25-летний опыт и современные возможности. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2015; 7 (2): 93–95.
7. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С. и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2017; 27 (6): 20–40.
8. Морозов С.В., Кучерявый Ю.А. Гепатопротекторы в клинической практике: рациональные аспекты использования: пособие для врачей. М.: 4ТЕ Арт, 2011.
9. Минушкин О.Н. Гепатопротекторы: выбор препарата, продолжительность лечения, оценка эффективности: монография. М.: Гранат, 2014.
10. Peng L., Xie D.Y., Lin B.L., et al. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology*. 2011; 54 (3): 820–828.
11. Шералиев А.Р., Поликарпов А.А., Тилеубергенов И.И. и др. Случай внутривенного введения мононуклеарных клеток аутологичного костного мозга и трансплантации печени у пациентки с циррозом. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2021; 23 (2): 88–94.
12. Am Esch J.S. 2nd, Knoefel W.T., Klein M., et al. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells*. 2005; 23: 463–470.
13. Chung S.J., Lee T.Y., Lee Y.H., et al. Phase I trial of intra-arterial administration of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with multiple system atrophy. *Stem Cells Int*. 2021; 19: 9886877.
14. Feng Y., Wang A.T., Jia H.H., et al. A brief analysis of mesenchymal stem cells as biological drugs for the treatment of acute-on-chronic liver failure (ACLF): safety and potency. *Curr. Stem Cell Res. Ther*. 2020; 15 (3): 202–210.
15. Коткас И.Е. Изменение гемодинамики печени после ее резекции на фоне применения клеточных технологий. Медицина и здравоохранение в современном обществе: сборник. 2020: 38.
16. Levicar 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: 115–125.
17. Mahmoud S.Z., Abdo E.F., Helal S.R., et al. Clinical and laboratory outcomes of stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis: single-arm pilot trial. *J. Curr. Med. Res. Pract*. 2019; 4 (1): 44.
18. Ивашкин В.Т., Павлов Ч.С. Фиброз печени: монография. М.: Медкнига, 2011.
19. Newsome P.N., Fox R., King A.L., et al. Granulocyte colony-stimulating factor and autologous CD133-positive stem-cell therapy in liver cirrhosis (REALISTIC): an open-label, randomised, controlled phase 2 trial. *Lancet Gastroenterol. Hepatol*. 2018; 3: 25–36.
20. Pais R., Barritt 4th A.S., Calmus Y., et al. NAFLD and liver transplantation: current burden and expected challenges. *J. Hepatol*. 2016; 65 (6): 1245–1257.
21. Паюшина О.В., Цомартова Д.А., Черешнева Е.В. и др. Регуляторное влияние мезенхимных стромальных клеток на развитие фиброза печени: клеточно-молекулярные механизмы и перспективы клинического применения. *Журнал общей биологии*. 2020; 81 (2): 83–95.
22. Sakai Y., Takamura M., Seki A., et al. Phase I clinical study of liver regenerative therapy for cirrhosis by intrahepatic arterial infusion of freshly isolated autologous adipose tissue-derived stromal/stem (regenerative) cell. *Reg. Ther*. 2017; 6: 52–64.
23. Vaid A., Chweich H., Balk E.M., et al. Molecular adsorbent recirculating system as artificial support therapy for liver failure: a meta-analysis. *ASAIO J*. 2012; 58: 51–59.
24. Yannaki E., Anagnostopoulos A., Kapetanios D., et al. Lasting amelioration in the clinical course of decompensated alcoholic cirrhosis with boost infusions of mobilized peripheral blood stem cells. *Exp. Hematol*. 2006; 34: 1583–1587.

Treatment of Hepatic Failure by Intraportal Administration of Autological Bone Marrow Mononuclear Cells in a Patient With Liver Cirrhosis: the First Experience of the Moscow City Clinical Botkin Hospital

A.V. Shabunin, Academician of RAS, PhD, Prof.^{1,2}, V.V. Bedin, PhD^{1,2}, Ch.S. Pavlov, PhD, Prof.^{1,3}, O.N. Levina, PhD¹, P.A. Drozdov, PhD^{1,2}, Yu.A. Oleynik¹, G.M. Chechenin, PhD^{1,2}, V.A. Tsurkan¹

¹ S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow

² Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow

³ Sechenov University, Moscow

Contact person: Oksana N. Levina, levinaoks@mail.ru

Hepatic failure is one of the most common manifestation of liver cirrhosis. Currently, there are no medication or invasive procedure, which can reliably improve liver function. Research on the use of autologous bone marrow mononuclear stem cells to correct the morphofunctional manifestations of acute and chronic liver failure is encouraging. This clinical case demonstrates the safety and clinical effectiveness of intraportal administration of autologous bone marrow mononuclear cells obtained by apheresis after stimulation with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

Keywords: liver cirrhosis, autologous bone marrow mononuclear stem cells, stem cell therapy, hepatic failure, intraportal administration