ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АУТОГЕННЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

Б.А. Агаев [1], Р.М. Агаев [1], А.Г. Попандопуло [2], Р.Э. Джафарли [1]

[1] Азербайджанский Медицинский Университет, Баку, Азербайджан
[2] Международный центр биотехнологий «Biostem» Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака (НАМН), Донецк, Украина

Experimental study of autologous multipotent mesenchymal stromal cells in hepatic cirrhosis treatment

B.A. Agaev [1], R.M. Agaev [1], A.G. Popandopulo [2], R.E. Djafarli [1]
[1] Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan
[2] International Center for Biotechnology «Biostem», V.K. Husak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery of NAMS, Donetsk, Ukraine

Цирроз печени — тяжелое заболевание, характеризующееся замещением печеночной паренхимы соединительной тканью. Существующие консервативные методы лечения не эффективны. В этой связи, актуальна разработка новых подходов, наиболее эффективными из которых могут оказаться клеточные технологии.

В данном исследовании мы оценивали эффективность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), введенных через общую печеночную артерию или воротную вену, в лечении экспериментально вызванного цирроза печени крыс.

По данным биохимических, ультразвуковых и гистологических методов исследования, была показана эффективность применения ММСК при циррозе печени. Интересно, что более выраженная положительная динамика отмечалась при внутриартериальном введении клеток.

Ключевые слова: цирроз печени, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, общая печеночная артерия, воротная вена.

Cirrhosis of the liver is a serious disease characterized by replacement of liver parenchyma by fibrous tissue. Standard conservative treatments are not effective. In this regard, it's actual to develop the new approaches, the most effective of which may be turned out the cellular technologies.

In this study we evaluated the efficacy of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) introduced via the common hepatic artery or portal vein in the treatment of experimentally induced liver cirrhosis in rats.

According to biochemical, ultrasound and histological methods, MMSC were shown to be effective in liver cirrhosis. Interestingly, the more pronounced positive dynamics was observed with intraarterial administration of cells.

Key words: Cirrhosis of the liver, multipotent mesenchymal stromal cells, common hepatic artery, portal vein.

Анализ статистических данных, посвященных заболеваемости населения, показал неуклонный рост числа больных с циррозом печени (ЦП) [1]. ЦП является хроническим заболеванием, которое характеризуется замещением печеночной паренхимы соединительной тканью и изменением внутрипортальной гемоциркуляции, прогрессирующим течением и высокими показателями летальности [2].

В большинстве случаев при лечении больных с ЦП большое значение уделяется мероприятиям, направленным на усиление регенераторного потенциала печеночной паренхимы и коррекцию метаболических нарушений. Однако существующие терапевтические методы при данном заболевании не эффективны, в связи с чем патология прогрессирует и со временем сопровождается декомпенсацией и даже малигнизацией. Согласно литературным данным, если средняя продолжительность жизни больных при компенсированной стадии ЦП составляет 10 лет, то при декомпенсированной не более 2 лет [2].

Указанные выше обстоятельства служат причиной поиска более эффективных и доступных методов лечения, обеспечивающих активацию процессов регенерации печеночной паренхимы при цирротическом поражении. В этом аспекте большой интерес представляют «инструменты» клеточной терапии [3], одним из которых является применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК). Основанием для исследований их использования в лечении ряда заболеваний явились охарактеризованные морфофункциональные свойства ММСК, в совокупности определяющие способность стимулировать репаративную регенерацию различных тканей [3, 4].

В этой связи, цель предпринятого нами исследования заключалась в оценке влияния аутогенных ММСК, трансплантированных различными способами, на почечную гемодинамику в экспериментальной модели цирроза печени.

Одним из принципиальных аспектов любого исследования являются надежные, объективные критерии и методы оценки эффективности. В нашей работе для определения эффективности лечения ЦП аутогенными ММСК, помимо стандартных гистологических методов, мы использовали возможности ультразвукового допплеровского исследования (УЗДИ). Как известно, УЗДИ является основным методом диагностики, проводимым для оценки и визуализации структурных особенностей печени и ее гемодинамики при различных патологических состояниях [5–7]. Он отличается относительной простотой и доступностью. По данным литературы, ультразвуковое сканирование сосудов системы воротной вены (ВВ) считается «золотым» стандартом для выявления нарушений кровотока при заболеваниях печени и портальной гипертензии [8, 9]. Анализ литературных источников показал, что оценка печеночной гемодинамики при помощи УЗДИ применяется, главным образом, в клинической практике [10], а примеры его использования в экспериментальных исследованиях не столь многочисленны.

e-mail: dr-jafarli@mail.ru

Материал и методы

Исследование выполнено на белых крысах-самцах линии Wistar (n = 49) массой 150–180 г, возрастом не менее 3 мес., в соответствии с правилами «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях».

Получение ММСК

Аутогенные ММСК выделяли из костного мозга бедренной кости после ампутации нижней конечности животного до начала формирования модели цирроза печени и портальной гипертензии.

Эксплантация тканевого источника. Ампутацию нижней конечности выполняли под наркозом (Кетамин, 90 мг/кг веса животного). Операция производилась без применения артериального жгута, со строгим поэтапным пересечением мышц, сосудов, нервных стволов. Сначала выполняли два окаймляющих разреза по передней и задней поверхности верхней трети бедра с формированием переднего и заднего кожно-фасциальных лоскутов, пересекали и перевязывали большую подкожную вену бедра. Далее поэтапно пересекали четырехглавую мышцу бедра (разгибатель) по передней ее поверхности. Кровотечение останавливали по ходу операции кровоостанавливающими зажимами с последующей электрокоагуляцией, без применения шовного материала. Вскрывали наружный листок сосудистого влагалища, выделяли и перевязывали бедренную артерию и вену на уровне предполагаемого распила кости. Пилкой пересекали бедренную кость максимально проксимальнее уровня пересечения мышц. Затем рассекали заднюю межмышечную перегородку от задней поверхности бедренной кости до уровня пересечения мышц сгибательной задней группы и медиальной (приводящей) группы. Далее выделяли седалищный нерв в клетчатке между длинной головкой двуглавой мышцы бедра и полусухожильной мышцей, После этого завершали пересечение заднемедиальной группы мышц бедра, отступя на 1,0–2,0 см от края сократившегося кожно-фасциального лоскута от рассеченной межмышечной перегородки к задней поверхности бедра. В последующем выполняли послойное ушивание пересеченных мышц, наложение швов на фасцию бедра и на кожу. Летальность после ампутации конечности среди животных составила 4,1% (n = 2) (табл. 1).

Получение первичной популяции ММСК. После ампутации конечности пунктировали нижний диафиз бедренной кости через поверхность коленного сустава, после чего осуществляли стерильную промывку полости фосфатно-солевым буфером Дульбекко. Полученную суспензию разбавляли раствором Хэнкса (Биолот, Россия) в соотношении 1:2,5. Специальные пробирки емкостью 5 мл заполняли Histopaque 1077 (Sigma, США), на который наслаивали разбавленный костный мозг (в соотношении 1:1) и центрифугировали при комнатной температуре в режиме 1800–2000 об./мин в течение 30–40 мин. Образовавшееся интерфазное кольцо с ядросодержащими клетками костного мозга промывали раствором Хенкса и осаждали центрифугированием при 800–1000 об./мин. в течение 8–10 мин. Процедуру отмывки повторяли 3 раза. Образовавшийся осадок смешивали с культуральной средой, содержащей DMEM/F12 (Sigma, США), 20% FBS (Биолот, Россия), митогены; высевали на пластиковые флаконы площадью 75 см^2 (Nuclon, США) с плотностью 1–2×10^5 кл./см^2 и помещали в CO_2-инкубатор (37°C; 5% CO_2).

Культивирование ММСК. Через 3 сут. среду DMEM/F12 заменяли на среду IMDM с 10% FBS, 2mM L-глутамина и 10^{-4}M 2-меркаптоэтанолом (Sigma, США), удаляя неприкрепившиеся клетки. ММСК культивировали в течение 42 дней с заменой среды каждые 3 сут. Регулярно выполняли исследования биоматериала на стерильность. Полученные клетки замораживали и хранили в криоконтейнере в среднем в течении 52±3,6 дней. Непосредственно перед трансплантацией ММСК размораживали.

Моделирование ЦП

ЦП у животных моделировали через 15 сут. после ампутации нижней конечности путем подкожного введения CCl_4 в виде 50% масляного раствора из расчета 0,3 мл/100 г массы животного, дважды в неделю в течение 12 недель. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, соответствующим нормативам. Момент формирования ЦП определяли по биохимическим, морфологическим (фиброз с формированием соединительнотканных септ и ложных долек, дистрофия и некроз гепатоцитов) и ультразвуковым критериям. В качестве биохимических критериев диагностики мы исследовали традиционные показатели (содержание в сыворотке крови общего белка, альбумина, амминотрансфераз (АЛТ, АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) до и на 8 нед.

Таблица 1. **Летальность среди животных (n = 49) на разных этапах экспериментального исследования**

Этап исследования		Количество погибших животных
Ампутация нижней конечности (n = 49)		2 (4,1%)
Моделирование ЦП (n = 47)		4 (8,5%)
Интраоперационная трансплантация ММСК	I группа (n = 21)	2 (9,5%)
	II группа (n = 22)	2 (9,1%)
Летальность в интервале 8 нед. после трансплантации ММСК	I группа (n = 19)	6 (31,6%)
	II группа (n = 20)	3 (15%)

после осуществления клеточной трансплантации. Биохимические исследования осуществлялись по стандартным методикам [11]. Летальность среди наблюдаемых животных на этапе моделирования ЦП составила 8,5% (n = 4) (см. табл. 1).

Трансплантация ММСК

Для сравнительной оценки эффективности различных способов трансплантации ММСК животные были разделены на 2 группы. В группу I (n = 21) вошли крысы, которым трансплантацию ММСК осуществляли в портальную вену; в группе II животные (22 крыс), перенесшие введение ММСК через общую печеночную артерию.

Трансплантацию ММСК выполняли под наркозом (Кетамин, 90 мг/кг; Ксилазин 90 мг/кг). Доступ к сосудам осуществляли с помощью лапаротомии. Введение клеток ($2{,}0\times10^6$ на 100 г массы животного в 1 мл 0,9% раствора NaCl) в общую печеночную артерию либо в портальную вену выполняли с помощью инсулинового шприца с иглой 0,4×8 мм. Общая летальность среди животных при внутрипортальном (2 крысы, 9,5%) и внутриартериальном (2 крысы, 9,1%) введении составила 9,3% (табл. 1). Причиной тому в 3 случаях явилось интраоперационное кровотечение (у 1 крысы (4,5%) при внутриартериальном введении, у 2 крыс (9,1%) при внутрипортальном введении) из инъецированного сосуда. В 1 случае (4,8%) летальный исход наступил у животного группы I вследствие тромбоза воротной вены.

Следует отметить, что в остальных случаях кровотечение в месте инъекции при внутрипортальном или внутриартериальном введении останавливали при помощи гемостатической губки.

Ультразвуковое исследование

Ультразвуковое исследование структуры печени (УЗИ) и исследование печеночной гемодинамики методом УЗДИ проводили сразу после формирования ЦП и через 8 нед. после трансплантации ММСК на ультразвуковом допплеровском аппарате «SonoRex – 4800» (Medison, Южная Корея). В режиме А осуществляли ультразвуковое сканирование паренхимы органов, в режиме В – УЗДИ сосудов. При этом определяли контуры, размеры органа, состояние паренхимы (в режиме А), а также ее гемодинамики (в режиме В). Кроме того, при ультразвуковом исследовании оценивали структуру селезенки и наличие асцита.

Состояние кровотока в общей печеночной артерии и в воротной вене оценивалось по качественным и количественным характеристикам. Количественные параметры спектра допплеровского сдвига частот сосудов портальной системы включали следующие показатели: Vmax, см/с – максимальная линейная скорость кровотока; Q, мл/мин – объемная скорость кровотока; RI – индекс циркуляторного сопротивления, резистентности; CI – конгестивный индекс, индекс застоя в воротной вене, см×с.

Гистологический анализ

Гистологическое исследование выполняли как с целью подтверждения моделирования ЦП, так и для оценки эффективности лечения ММСК в динамике исследования. Биопсию V и VI сегментов печени осуществляли пункционным транскутанным способом под контролем УЗИ до (при сформированной модели ЦП) и через 8 нед. после трансплантации ММСК. Манипуляцию выполняли под местным обезболиванием Sol. Novocaini 0,5%, 5 мл.

Биоптаты фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч. Затем промывали в проточной воде в течение 2–3 ч, обезвоживали в спиртах и заливали в парафин по стандартной методике. Парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм наносили влажным способом на тщательно обезжиренные и прокаленные предметные стекла, покрытые тонким слоем яичного белка с глицерином для лучшей фиксации срезов. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, а также суданом III для определения липидов и по Ван Гизону для визуализации фиброзного процесса.

Кроме того, проводили гистоморфометрическое исследование биоптатов с помощью окулярной сетки, в ходе которого измеряли зоны замещения паренхимы фиброзной тканью, определяли соотношения поврежденных и интактных гепатоцитов, синусоидов, клеточных инфильтратов и двух-трехъядерных гепатоцитов, а также площадь узлов регенерации.

Статистический анализ

Полученные цифровые данные подвергались статистической обработке методами вариационной статистики с использованием критерия χ^2. Вычисления осуществлялись с помощью программы Microsoft Excel 2007.

Результаты и обсуждение

В виду особенностей дизайна экспериментального исследования, на каждом из его этапов наблюдалась гибель нескольких животных (см. табл. 1). Общая летальность среди животных после трансплантации ММСК составила 23,1% (9 крыс из 39), из которых 3 (15%) погибли после интраартериальной, 6 (31,6%) – после внутрипортальной трансплантации ММСК.

Результаты биохимических анализов

Как показали результаты проведенных биохимических исследований, при смоделированном ЦП содержание общего белка и альбумина в сыворотке крови было ниже нормы на 25,1% и 42,2%, соответственно ($p<0{,}001$). АЛТ, АСТ и ЛДГ превышали нормальные в 3,5; 2,9 и 2,1 раз, соответственно ($p<0{,}05$).

Трансплантация ММСК при обоих путях введения приводила к улучшению биохимических показателей, характеризующих цитолитический синдром и белок-синтетическую функцию печени. Необходимо отметить, что в обеих группах через 8 недель после трансплантации ММСК биохимические показатели не достигали нормальных значений. Однако в группе II наблюдалась более выраженная положительная динамика (табл. 2).

Таким образом, анализируя изменение изучаемых показателей в ответ на применение ММСК, были обнаружены некоторые преимущества интраартериальной трансплантации клеток в сравнении с их внутрипортальным введением.

Таблица 2. **Биохимические показатели крови у крыс с циррозом печени до и после трансплантации ММСК**

Показатель	До трансплантации	Внутрипортальное введение	Внутриартериальное введение	Норма
Общий белок, г/л	42,9±2,2	47,2±1,5*	52,7±0,96*/**	57,3±2,8
Альбумин, г/л	17,1±2,34	21,3±0,91*	24,1±2,4*/**	29,6±3,1
АЛТ, мМоль/ч*л	1,422±0,266	1,136 ±0,184*	0,787±0,046*/**	0,401 ±0,104
АСТ, мМоль/ч*л	1,728+0,187	1,176±0,112*	0,959±0,194*/**	0,602±0,172
ЛДГ, Ед/л	398,4±28,9	371,3±57,8	259,3±54,5*/**	190,4±18,6

* – разница между показателями до и после трансплантации статистически значима, $p<0,05$; ** – разница между показателями двух групп статистически значима, $p<0,05$.

Результаты ультразвукового исследования

На фоне ЦП у всех животных отмечалась гепатомегалия, эхоструктура печени была средне- либо крупнозернистой, контуры органа были неровными, бугристыми. Выявлялись признаки диффузного процесса, характеризующегося фиброзом. Достоверное увеличение селезенки (в среднем на 20,1±2,4%, $p<0,01$) в сравнении с нормальными размерами определялось в 38% случаев. Асцит был выявлен в 20,4% наблюдениях.

Сосудистый рисунок печени был изменен, печеночные вены характеризовались извитостью контуров, определялось гиперэхогенное уплотнение стенок воротной вены и плохая визуализация ее сегментарных ветвей, во всех случаях наблюдалась повышенная эхогенность стенок общей печеночной артерии. Диаметры всех печеночных артерий, а также воротной (на 60,8±5,2%) и селезеночной вен были увеличены. У животных отмечалось снижение максимальной скорости кровотока в венах портальной системы на 28,7±1,9%, увеличение объемного кровотока в селезеночной вене на 24,6±3,5%, по сравнению с исходным ($p<0,05$), а индекс резистентности общей печеночной артерии увеличивался на 19,7%. Индекс застоя в воротной вене у животных с ЦП до начала лечения превышал исходные значения на 88,9±6,9% ($p<0,01$). Полученные при помощи УЗДИ данные также свидетельствовали о наличии портальной гипертензии (табл. 3).

При допплеровском исследовании также выявлены аномалии фазного пульсирующего кровотока в печеночной вене, снижение тонуса печеночных вен, что подтверждалось достоверным уменьшением амплитуды систолической волны. Результаты проведенных нами исследований, характеризующих морфологические и гемодинамические изменения печени при циррозе совпадают с данными других авторов [12]. Отмеченное рядом авторов увеличение притока крови по артериальному руслу в печень при циррозе по общей печеночной артерии при ЦП, так называемая «артериализация», была выявлена и в нашем исследовании [7].

Через 8 нед. после трансплантации ММСК в обеих группах наблюдалась тенденция к снижению выраженности артериального кровоснабжения печени. Несколько большая положительная динамика изменения исследуемых показателей отмечалась у животных группы II (табл. 3). Так, в данной группе диаметр и объемная скорость кровотока общей печеночной артерии были выше аналогичных показателей нормы

Таблица 3. **Морфометрические и гемодинамические показатели общей печеночной артерии (ОПА) и воротной вены (ВВ), M±m**

Параметры	Результаты полученные до начала моделирования ЦП (n = 47)	Печеночная гемодинамика при сформированной модели ЦП (n = 43)	Печеночная гемодинамика на 8 нед. после трансплантации СК	
			I группа (n = 19)	II группа (n = 20)
D ОПА, мм	3,3±0,2	4,9±0,3+	4,5±0,2*	4,1±0,06**
Vmax ОПА, см/с	28,5±11,2	46,7±10,05	41,6±9,2*	34,7±8,2**
Q ОПА, мл/мин	198,4±31,5	282,3±28,2+	252,8±39,1*	226,9±26,4**
RI ОПА	0,6±0,02	0,73±0,01	0,70±0,03	0,6±0,02**
D ВВ, мм	5,1±0,3	8,2±0,2	7,3±0,4	6,2±0,3
Vmax ВВ, см/с	19,1±2,5	13,6±2,1	15,1±2,6	17,6±2,8
Q ВВ, мл/мин	350,4±28,1	569,3±34,4	456,7±62,1	402,6±55,2
CI, см/с	0,08±0,01	0,15±0,02	0,14±0,13	0,11±0,01

D – диаметр; V max – максимальная линейная скорость кровотока; Q – объемная скорость кровотока; RI – индекс циркуляторного сопротивления, резистентности; CI – индекс застоя в воротной вене; * – разница между показателями до и после трансплантации при ЦП статистически значима, $p<0,05$; ** – разница между показателями двух групп статистически значима, $p<0,05$; + – разница между показателем и нормальным значением статистически значима, $p<0,05$.

на 24,2% и 14,4%, но ниже показателей группы I на 8,9% и 10,2%, соответственно ($p<0,01$). Показатель RI превышал нормальное значение на 6,6%, но был достоверно ниже аналогичного показателя группы I на 7,1% ($p<0,05$). Более того, V max в группе II был выше, чем в группе I, на 16,6% ($p<0,05$). Преимущества внутриартериальной трансплантации ММСК отмечались и по CI – разница между группами составила 23,2% ($p<0,001$).

Таким образом, результаты ультразвукового исследования структуры и гемодинамики печени подтвердили состоятельность модели ЦП, а также эффективность применения ММСК, несколько большую при внутриартериальном введении клеток. Для выяснения возможного механизма действия ММСК результатов биохимических анализов крови и ультразвукового исследования, конечно, недостаточно. В этой связи, были использованы гистологические методы.

Результаты гистологического исследования

В ходе гистологического исследования биоптатов печени с циррозом до трансплантации ММСК были выявлены значительные структурные изменения паренхимы органа, характерные для экспериментального ЦП [13–15]. Если в норме структура печени характеризовалась четким радиальным расположением тяжей гепатоцитов вокруг центральных вен, то при ЦП наблюдалось ложнодольчатое строение органа с разрастанием соединительной ткани, дискомплексацией и массивной круглоклеточной инфильтрацией паренхимы. Гепатоциты проявляли признаки полиморфности, часть гепатоцитов находились в состоянии дистрофии и некроза. Изредка в поле зрения попадали двуядерные клетки. Вокруг измененных гепатоцитов наблюдались скопления нейтрофилов и лимфоцитов. Во многих клетках отмечался глыбчатый распад ядер. Паренхима печени характеризовалась наличием расширенных полнокровных центральных вен, желчных капилляров с «набухшим» эндотелием, перипортальным и внутридольковым некрозом гепатоцитов (рис. 1). По данным гистоморфометрического исследования, было выявлено достоверное увеличение в сравнении с нормой объемной доли некротических участков на 7,2±0,2%, узлов регенерации – до 11,6±2,4%, гидропической дистрофии – до 23,6±2,7%, а также внутридольковой клеточной инфильтрации – на 12,2±1,9%.

Полученные нами гистологические данные о структуре печени со смоделированным циррозом совпадают с результатами других исследователей [13].

Через 8 нед. после трансплантации ММСК было выявлено уменьшение интенсивности воспалительно-некротического процесса в обеих группах животных. На фоне нарушения общей гистоархитектоники, некроза гепатоцитов, определялись единичные субкапсулярные очаги регенерации. В паренхиме

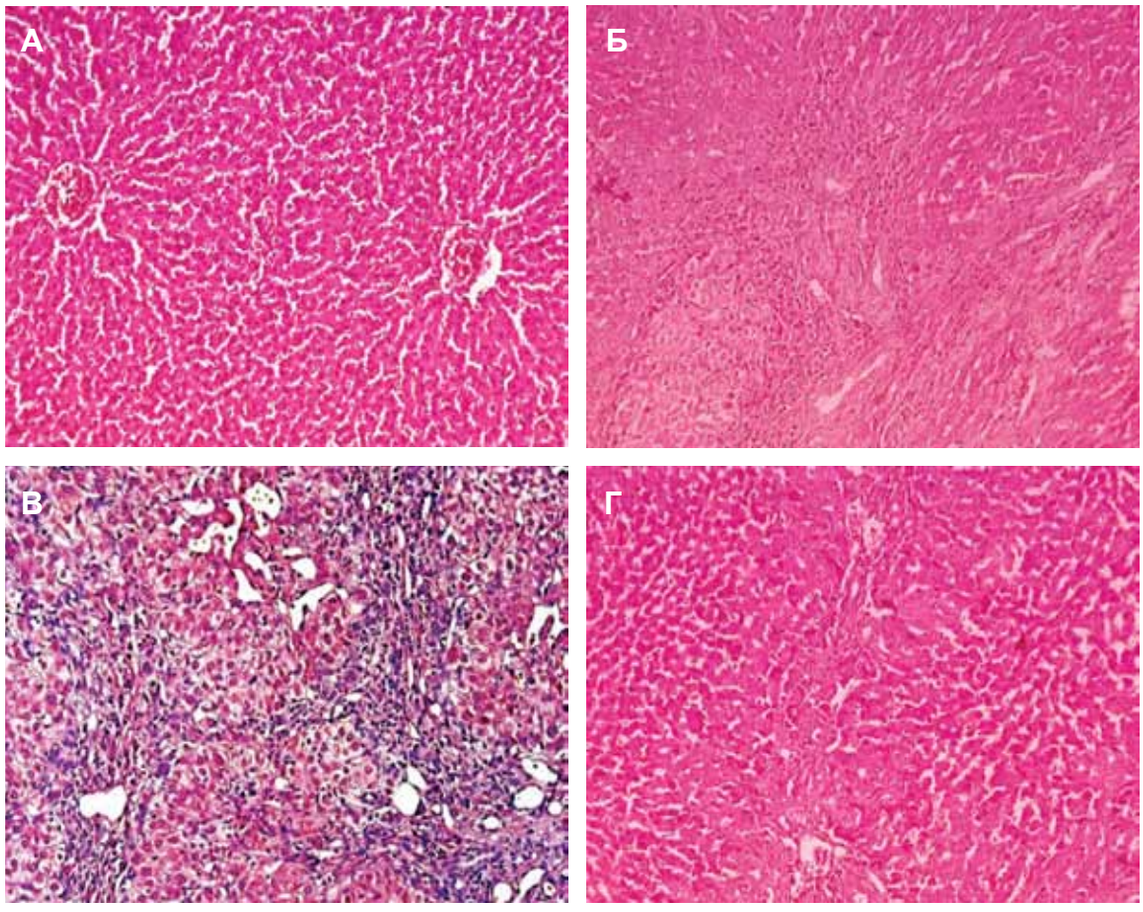

Рис. 1. Печень крыс: А – норма, Б – ЦП; В – через 8 недель после внутрипортального введения ММСК; Г – через 8 недель после внутриартериального введения ММСК.
Окр.: гематоксилин и эозин. Ув. ×250

печени определялись диффузно расположенные двуядерные гепатоциты, а также печеночные клетки с увеличенными ядрами. Указанные выше обстоятельства свидетельствуют об активизации восстановительных процессов в органе. Хотя ложные дольки сохранялись, в их составе чаще выявлялись гепатоциты с нормальными тинкториальными свойствами, что согласуется с данными других авторов [16]. Обнаружено изменение сосудистого компонента – неспавшиеся синусоиды, умеренно расширенные центральные вены.

Интраартериальное введение ММСК при ЦП приводило к более выраженной репаративной регенерации, особенно в периваскулярном пространстве (см. рис.), что подтверждалось и проведенными нами гистоморфометрическими исследованиями. У животных группы II капилляризация синусоидов, которая является характерной для ЦП, была менее выражена в сравнении с группой I.

У животных II группы выявлялось увеличение относительного объема внутридольковых клеточных инфильтратов (на 5,3±09%) и узлов регенерации (8,1±0,6%) в сравнении с дооперационными данными. При этом сохранялась увеличенная площадь поврежденных гепатоцитов с признаками белковой и жировой дистрофии, 13,2±1,2% и 10,7±0,81%, соответственно. Также наблюдались участки ступенчатых некрозов (0,7±0,01%), увеличивалась объемная доля портальных трактов (4,8±0,5%) и клеточных инфильтратов в портальных трактах (3,8±0,9%). Достоверно увеличивался объем сосудов и синусоидов – на 11,0±1,3%.

В группе I участки ступенчатых некрозов составляли до 1,7±0,02%, превышая значение показателя группы II. Увеличилась относительная площадь участков регенерации на 12,0±0,1%, по сравнению с ЦП без лечения, составляя 8,7±0,4%.

Таким образом, трансплантация ММСК как при внутриартериальном, так и при внутрипортальном введении в использованной нами дозе оказалась эффективной при ЦП. Наблюдались положительные изменения биохимических, ультразвуковых и гистологических показателей. Несколько более выраженная позитивная динамика отмечалась при внутриартериальном введении. Однако детализация механизма действия ММСК при различных путях введения требует проведения дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ерамищанцев А.К., Сухих Г.Т. Внутриорганная аллотрансплантация стволовых и прогениторных клеток при лечении больных циррозом печени и портальной гипертензией. Анналы хирургической гепатологии 2007; 12(2): 31–8.

2. Иоскевич Н.Н. Практическое руководство по клинической хирургии: Болезни пищеварительного тракта, брюшной стенки и брюшины, 2001, 685 с.

3. Пирогова И.Ю., Пышкин С.А. Регенерационная терапия хронических гепатитов и циррозов печени с помощью трансплантации фетальных тканей. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2008; 3(1): 57–61.

4. Пышкин С.А., Димов П.Г., Пирогова И.Ю. и др. Стимуляция регенерации в лечении хронических гепатитов и циррозов печени. Анналы хир. гепатол., 2004; 9(1): 60–9.

5. Берестень Н.Ф. Допплерэхография в комплексной оценке нарушений печеночной и сердечной гемодинамики [диссертация]. М.; 2000.

6. Митьков В.В. Ультразвуковая диагностика (практическое руководство). Допплерография. М.: Видар; 1999.

7. Степанова Н.С., Титова О.В. Особенности портального кровотока у больных хроническим гепатитом. Вестник Смоленской медицинской академии 2004; 1: 83–6.

8. Pierce M.E., Sewell R. Identification of hepatic cirrhosis by duplex doppler ultrasound value of the hepatic artery resistive index. Australian Radiol. 1990;34(4): 331–3.

9. Sabiston D.L. Textbook of surgery. The biological basis of modern surgical practice. 2001, p. 2158

10. Авезов С.А., Гиесов М.М. Ультразвуковая ангиография в диагностике портальной гипертензии. Проблемы гастроэнтерологии 2007; 1: 34–8.

11. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Томск; 1980, 313 с.

12. Серикпаев Ж.Ж. Морфофункциональное состояние микроциркуляторного русла печени в условиях острой портальной гипертензии (анатомо-экспериментальное исследование) [диссертация]. Алматы; 2010,

13. Пальцев А.И., Старостина Н.М., Леплина О.Ю. Роль стволовых клеток в регенерации печени – новые подходы к лечению цирроза печени. Клинические и фундаментальные проблемы клеточных биотехнологий, Новосибирск, 2005, с. 11–2.

14. Джафарли Р.Э. Состояние печеночной гемодинамики при экспериментальном моделировании цирроза печени и портальной гипертензии у крыс. Вестник хирургии Казахстана 2014; 1: 15–7.

15. Онищенко Н.А., Люндуп А.В., Деев Р.В. и др. Синусоидальные клетки печени и клетки костного мозга как компоненты единой функциональной системы регуляции восстановительного морфогенеза в здоровой и поврежденной печени. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2011; VI(2): 78-92.

16. Люндуп А.В. Применение мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для коррекции фиброзирующего повреждения печени (экспериментальное исследование) [диссертация]. М.: ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. В.И. Шумакова; 2012.

Поступила 27.01.2014