

**С.П. Лукашик\*<sup>1</sup>, О.В. Алейникова<sup>2</sup>, В.М. Цыркунов<sup>3</sup>,  
И.А. Карпов<sup>1</sup>, Я.И. Исайкина<sup>2</sup>, О.В. Красько<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> — УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
кафедра инфекционных болезней, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> — ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии,  
гематологии и иммунологии», Минск, Беларусь

<sup>3</sup> — УО «Гродненский государственный медицинский университет»,  
кафедра инфекционных болезней, Гродно, Беларусь

<sup>4</sup> — Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси,  
Минск, Беларусь

## ОЦЕНКА ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ КОСТНОГО МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ, ВЫЗВАННЫМ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

**S.P. Lukashyk\*<sup>1</sup>, O.V. Aleinikova<sup>2</sup>, V.M. Tsyркunov<sup>3</sup>,  
I.A. Karpov<sup>1</sup>, Y.I. Isaykina<sup>2</sup>, O.V. Krasko<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> — Belarusian State Medical University, Department of Infectious Diseases, Minsk, Belarus

<sup>2</sup> — Belarusian research center for pediatric oncology, hematology and immunology", Minsk, Belarus

<sup>3</sup> — Grodno State Medical University, Department of Infectious Diseases, Grodno, Belarus

<sup>4</sup> — Joint institute for informatics problems of the National academy of sciences of Belarus, Minsk, Belarus

## Evaluation Transplantation of Bone-Derived Mesenchymal Stem Cell in the Patients with Hepatitis C-Related Liver Cirrhosis (Pilot Study)

### Резюме

**Введение.** Цирроз печени является конечной стадией прогрессирования хронических диффузных заболеваний печени. Поздние стадии цирроза печени, как правило, не поддаются консервативному лечению, и единственным эффективным методом помощи пациентам на данной стадии является трансплантация печени. Однако широкое применение последней в клинической практике сопряжено с серьезными препятствиями: нехваткой донорских органов, отторжением трансплантата, осложнениями в ходе операции и послеоперационном периоде, а также высокой стоимостью такого вмешательства. Трансплантация стволовых клеток костного мозга, особенно трансплантация мезенхимальных стволовых клеток, может быть потенциальным средством лечения цирроза печени и применяться после проведения дополнительных клинических исследований по эффективности и безопасности. **Цель исследования** — оценить эффективность и безопасность интрапаренхимальной трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга для лечения пациентов с циррозом печени, вызванным вирусом гепатита С (ВГС). **Материалы и методы.** Проведено пилотное открытое нерандомизированное проспективное исследование с включением 6 пациентов с циррозом печени, вызванным вирусом гепатита С. Аутологичные мезенхимальные стволовые клетки трансплантировали внутрипаренхимально в ткань печени из расчета  $1 \times 10^6$ /кг массы тела — по 1 мл в 5 точек. **Результаты.** К 6 мес. после трансплантации наблюдалось снижение уровня билирубина (с  $36,4$  мкмоль/л до  $27$  мкмоль/л,  $p=0,03$ ), баллов по показателю MELD (с  $11,5$  до  $8$ ,  $p=0,035$ ), повышение уровней тромбоцитов к 3 мес. (с  $83 \times 10^9$ /л до  $124,6 \times 10^9$ /л,  $p=0,031$ ) и 6 мес. (до  $119,5 \times 10^9$ /л,  $p=0,031$ ). Не было отмечено влияния к 6 мес. после трансплантации на баллы по шкале Чайлд-Пью ( $p=0,181$ ), показатели цитолиза (сохранение повышенных уровней аланинаминотрансферазы ( $p=0,062$ ) и аспартатаминотрансферазы ( $p=0,844$ )), репликативную активность вируса (сохранение РНК ВГС в крови) ( $p=0,219$ ). Введение

\*Контакты: Светлана Петровна Лукашик, e-mail: svetlanalukashik@mail.ru

\*Contacts: Svetlana P. Lukashyk, e-mail: svetlanalukashik@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3641-3777>

мезенхимальных стволовых клеток к 6 мес. после трансплантации не приводило к разрешению цирроза печени и воспалительной инфильтрации по данным световой микроскопии, а также к разрешению капилляризации синусоидов ( $p=0,586$ ) и трансдифференцировки звездчатых клеток Ито в миофибробласты ( $p > 0,99$ ) по данным иммуногистохимического исследования. Ни у кого из пациентов после проведения трансплантации не было отмечено повышения температуры тела, увеличения лабораторных показателей, изменений со стороны жизненно важных функций. У одного пациента при госпитализации через 6 мес. после трансплантации мезенхимальных стволовых клеток был диагностирован тромбоз глубоких вен правой голени. **Выводы.** Отмечено положительное влияние мезенхимальных стволовых клеток на улучшение функции печени, при отсутствии их влияния на репликативную активность вируса и сохраняющуюся активность воспалительного процесса. Исползованная методика трансплантации мезенхимальных стволовых клеток является безопасной процедурой для пациентов с циррозом печени, вызванным вирусом гепатита С классов тяжести А и В и может быть применена в клинической практике.

**Ключевые слова:** вирус гепатита С, цирроз, мезенхимальные стволовые клетки, трансплантация

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что данная работа, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов

### Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования

Статья получена 31.01.2021 г.

Принята к публикации 05.03.2021 г.

**Для цитирования:** Лукашук С.П., Алейникова О.В., Цыркунов В.М. и др. ОЦЕНКА ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ КОСТНОГО МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ, ВЫЗВАННЫМ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ).

Архивъ внутренней медицины. 2021; 11(2): 132-145. DOI: 10.20514/2226-6704-2021-11-2-132-145

### Abstract

**Introduction.** Liver cirrhosis (LC) is the final stage in the progression of chronic diffuse diseases. As common, late stages of LC do not respond to conservative treatment methods, so liver transplantation is the most effective method at this stage. Widespread use of transplantation in clinical practice is due to serious obstacles: a shortage of donor organs, transplant rejection, complications during the operation and the postoperative period, as well as the high cost of such an intervention. We consider bone marrow stem cell transplantation as a potential treatment for liver cirrhosis and additional clinical trials for efficacy and safety. The aim of the study was to assess the efficacy and safety of intraparenchymal transplantation of autologous MSCs from the bone marrow for the treatment of patients with cirrhosis of the liver caused by the hepatitis C virus (HCV-LC). **Materials and methods.** A pilot open-label non-randomized prospective study with the inclusion of 6 patients with HCV-LP. Autologous MSCs were transplanted intraparenchymally into the liver tissue at the rate of  $1 \times 10^6$ /kg body weight — 1 ml at 5 points. **Results.** By 6 months after transplantation, there has been a decrease in the level of bilirubin (from  $36,4 \mu\text{mol/L}$  to  $27 \mu\text{mol/L}$ ,  $p=0,03$ ), MELD scores (from 11,5 to 8,  $p=0,035$ ), and an increase in platelet levels by 3 months (from  $83 \times 10^9 / \text{l}$  to  $124,6 \times 10^9 / \text{l}$ ,  $p=0,031$ ) and 6 months (up to  $119,5 \times 10^9 / \text{l}$ ,  $p=0,031$ ). By 6 months after transplantation, there has been no statistically significant result in changing on points on the Child-Pugh scale ( $p=0,181$ ), cytolysis indicators (maintaining elevated levels of ALT ( $p=0,062$ ) and AST ( $p=0,844$ )), replicative activity of the virus (preservation of HCV RNA in the blood) ( $p=0,219$ ). Moreover, introduction of MSCs by 6 months after transplantation did not lead to resolution of liver cirrhosis and inflammatory infiltration according to light microscopy data, as well as to resolution of sinusoidal capillarization ( $p=0,586$ ) and PCI transdifferentiation into myofibroblasts ( $p > 0,99$ ) according to immunohistochemical studies. None of the procedures after the transplantation had an increase in body temperature, an increase in laboratory parameters, or changes in vital functions. One patient was admitted to hospital after 6 months. after MSC transplantation, deep vein thrombosis of the right leg was diagnosed. **Conclusion.** The positive effect of MSCs on the improvement of liver function was noted. There was no effect on the replicative activity of the virus. The continuing activity of the inflammatory process was observed. The used MSC transplantation technique is a safe procedure for patients with HCV-LC severity classes A and B and can be applied in clinical practice.

**Key words:** hepatitis C virus, cirrhosis, mesenchymal stem cells, transplantation

### Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests

### Sources of funding

The authors declare no funding for this study

Article received on 31.01.2021

Accepted for publication on 05.03.2021

**For citation:** Lukashyk S.P., Aleinikova O.V., Tsyrcunov V.M. et al. Evaluation Transplantation of Bone-Derived Mesenchymal Stem Cell in the Patients with Hepatitis C-Related Liver Cirrhosis (Pilot Study). The Russian Archives of Internal Medicine. 2021; 11(2): 132-145. DOI: 10.20514/2226-6704-2021-11-2-132-145

АлАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспартатаминотрансфераза, АФП — альфа-фетопротейн, ВГС — вирус гепатита С, ГГТП — гамма-глутамилтрансфераза, ГСК — гемопоэтические стволовые клетки, ЗКИ — звездчатые клетки Ито, КМ — костный мозг, МСК — мезенхимальные стволовые клетки, МКА — моноклональные антитела, НЯ — нежелательное явление, ПБП — пункционная биопсия печени, УЗИ — ультразвуковое исследование, ЦП — цирроз печени, ФИТС — флуоресцеинизотиоцианат, ЩФ — щелочная фосфатаза, ЭТС — эмбриональная телячья сыворотка, CD — кластер дифференцировки, IMDM — модифицированная Iscove среда Дульбекко, LC — цирроз печени, Me (min; max) — медиана (минимум; максимум), MELD — модель терминальной стадии болезни печени,  $\alpha$ -SMA — альфа-гладкомышечный актин.

Цирроз печени (ЦП) является конечной стадией прогрессирования хронических диффузных заболеваний печени и характеризуется нарушением архитектоники печени с формированием узлов-регенератов. Поздние стадии ЦП как правило не поддаются консервативному лечению, и единственным эффективным методом помощи пациентам на данной стадии является трансплантация печени. Однако широкое применение последней в клинической практике сопряжено с серьезными препятствиями: нехваткой донорских органов, отторжением трансплантата, осложнениями в ходе операции и послеоперационном периоде, а также высокой стоимостью такого вмешательства.

Клеточная терапия, как представляется, являясь малоинвазивной процедурой, может дополнять лечение поздних стадий ЦП. Резервуаром различных стволовых клеток, включая гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) и мезенхимальные стволовые клетки (МСК), является костный мозг. Хотя было доказано, что МСК способны к мезодермальной и нейроэктодермальной дифференцировке, [1] они обладают потенциалом к энтодермальной дифференцировке; а также к дифференцировке в функциональные гепатоцитоподобные клетки [2]. ГСК и МСК обладают способностью трансдифференцироваться в гепатоциты *in vivo*, однако МСК являются наиболее мощным компонентом клеток костного мозга для дифференцировки в печени [3]. Это подтверждается результатами проведенных экспериментальных и клинических исследований. Так, существуют работы, продемонстрировавшие, что человеческие эмбриональные стволовые клетки могут трансдифференцироваться в гепатоциты в двух- и трехмерных системах культивирования *in vitro* [4, 5]. В других исследованиях было показано, что циркулирующие взрослые стволовые клетки способны дифференцироваться в зрелые гепатоциты или холангициты в организме человека [6, 7]. Исследования на животных продемонстрировали, что МСК, введенные крысам через хвостовую вену, могут защитить их от развития фиброза печени в эксперименте [8]. Более того, инфузия негематопоэтических стволовых клеток костного мозга может привести к регрессу фиброза у мышей [9]. Существуют клинические исследования, продемонстрировавшие безопасность и положительное влияние МСК на течение хронических заболеваний печени различной этиологии: отсутствие проонкогенного потенциала, улучшение биохимических показателей, снижение воспаления в паренхиме печени, снижение процессов коллагенообразования [10, 11]. В контролируемом клиническом исследовании с участием 20 пациентов с декомпенсированным циррозом печени после трансплантации МСК значительно улучшились показатели MELD (Model For End-Stage Liver Disease) ( $p=0,0001$ ), МНО ( $p=0,012$ ), билирубина ( $p < 0,0001$ ) и общего альбумина ( $p < 0,0001$ ) [12]. В то же время существуют исследования, в результате которых не удалось продемонстрировать влияния МСК на снижение фиброза печени [13].

**Цель исследования** — оценить эффективность и безопасность интрапаренхимальной трансплантации аутологичных МСК из костного мозга для лечения пациентов с циррозом печени, вызванным вирусом гепатита С (ВГС-ЦП).

## Характеристика пациентов с ВГС-ЦП

Проведено пилотное открытое нерандомизированное проспективное исследование. Набор пациентов проводился на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Беларусь с 23.02.2009г. (дата включения первого пациента) по 29.12.2009г. (дата включения последнего пациента).

В исследование включались пациенты, которые подписали представленное им информированное согласие, женского и мужского пола, в возрасте старше 18 и до 53 лет с ВГС-ЦП классом тяжести А и В по Чайлд-Пью [14-16], в крови у которых были выявлены анти-ВГС (суммарные антитела к ВГС) и РНК ВГС. Пациенты ранее имели терапевтическую неудачу при лечении стандартным интерфероном, и от момента завершения лечения у них прошло не менее 1 года.

Критериями невключения служили сопутствующая ВИЧ-инфекция, вирусный гепатит В, гепатоцеллюлярная карцинома, опухоли других локализаций, тяжелая сопутствующая патология, беременность и кормление грудью. В исследование не включались пациенты в возрасте младше 18 лет, пациенты после трансплантации печени и почек.

## Процедуры исследования

Включение в исследование было последовательным.

Проводилась первичная госпитализация для комплексного обследования и забора МСК из костного мозга. Собирались демографические, клинические, лабораторные, биологические данные.

Диагностические тесты и инструментальные методы включали проведение биохимического анализа крови с определением уровней общего билирубина, аспаратаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП), холестерина, общего белка, альбумина, креатинина, мочевины, альфа-фетопротеина (АФП); исследование общего анализа крови и мочи; УЗИ органов брюшной полости. Данные пациентов вносились в электронную базу. Вышеперечисленные лабораторные и инструментальные исследования были использованы для динамического наблюдения за статусом пациентов в посттрансплантационном периоде и оценки эффективности.

Дополнительно в шкалу оценки эффективности введено морфологическое исследование биоптата печени. Биоптаты оценивались методом световой микроскопии. Кроме того, использовались методы иммуногистохимической оценки изменений в печени,

позволяющие оценить активацию миофибробластов по экспрессии альфа-гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA); феномен капилляризации синусоидов по экспрессии CD34+. Для проведения иммуногистохимического исследования биоптаты печени фиксировали в 10 % нейтральном растворе формалина и заливали в парафин по стандартной методике. В последующем использовали коммерческие антитела к антигенам CD34,  $\alpha$ -SMA («Dako», США). Для морфометрического исследования микропрепараты фотографировали в 5–6 полях зрения (объектив 40), а также 10 полях зрения (объектив 100) с разрешением 1798 на 1438 пикселей при помощи микроскопа Leica с цифровой камерой Leica (Leica Microsystems, Германия). Площадь исследуемых полей зрения составила  $298,47 \times 238,71 = 71\,247,77 \mu\text{m}^2$  (увеличение  $\times 40$ ) и  $113,53 \times 98,29 = 11\,158,86 \mu\text{m}^2$  (увеличение  $\times 100$ ) соответственно. Распространенность фиброзных изменений (CD34,  $\alpha$ -SMA) оценивалась полуколичественным способом: 1 балл — слабо выраженная (иммунореактивность клеток в единичных синусоидах долек); 2 балла — умеренно выраженная (иммунореактивность клеток приблизительно до половины синусоидов долек); 3 балла — выраженная (иммунореактивность клеток большинства синусоидов долек).

Диагноз цирроза устанавливали на основании результатов комплексного клиничко-лабораторного обследования пациентов и результатов биопсии печени [17]. Для уточнения этиологии ЦП использовались данные эпидемиологического анамнеза (указание на перенесенный острый вирусный гепатит, перенесенные гемотрансфузии, оперативные вмешательства, лечение у стоматолога и др.), анамнеза заболевания, результатов исследования крови на маркеры вирусных гепатитов (HBsAg, anti-HCV, HCV RNA).

## Подготовка трансплантата МСК

Костный мозг забирали в объеме 40–60 мл посредством пункции (под анестезией) за 35–45 дней до планируемой инфузии МСК. Обязательным требованием являлось исследование МСК из каждого пассажа на стерильность по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации.

Для получения аутоотрансплантата МСК из костного мозга пациентов с ВГС-ЦП применяли технологию Исайкина Я.И. и др. [18] после модификации, заключающейся в трехкратном отмывании клеток через 48 часов после удаления неадгезированной фракции с целью минимизации возможной контаминации вирусной инфекцией с клетками крови. Выполняли несколько пассажей, при которых МСК наращивали *in vitro* в среде IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium) с 10 % эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) (Sigma, США), 2 мМ L-глутамин и  $10^{-4}$  М 2-меркаптоэтанол до нужного объема в зависимости от массы тела пациента. Клетки, снятые с поверхности культуральных флаконов последнего пассажа, дважды отмывали в физиологическом растворе, переносили в шприц объемом

10 мл для дальнейшей инфузии пациенту. Принадлежность полученных данным методом клеток к МСК подтверждали наличием поверхностных маркеров CD105, CD90, CD44, CD140.

**Имунофенотипический анализ МСК.** Окраску клеток моноклональными антителами (МКА) CD105, CD90, CD44, CD34, CD14 меченными фикоэритрином и CD45, меченными ФИТЦ (Beckman Coulter Inc., США), проводили по стандартной методике. Неспецифическое связывание МКА оценивали с помощью изотипического контроля. К образцу (100–200 тыс. клеток) добавляли 20 мкл специфических МКА и изотипического контроля и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 25–30 мин. После инкубации с антителами клетки дважды отмывали в фосфатном буфере путем центрифугирования в течение 5 мин при 300 g. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCan Becton Dickinson (БиоЛайн, Финляндия) в программе CellQuestPro. Для каждого образца анализировали не менее 10 тыс. клеток. Дополнительно к исследованию связывания МКА регистрировали параметры прямого и бокового светорассеяния клеток.

**Оценка жизнеспособности МСК.** Для анализа жизнеспособности клетки окрашивали 0,4 % раствором трипанового синего. При помощи светового микроскопа визуально подсчитывали в камере Горяева окрашенные (мертвые) и неокрашенные (живые) клетки в количестве не менее 100. Рассчитывали коэффициент жизнеспособности клеток (в процентах от общего числа подсчитанных клеток).

## Введение МСК

МСК трансплантировали внутривнутрипаренхимально: под контролем лапароскопа либо УЗИ путем последовательных пункций печени чрескожно в зону предварительно проведенной пункционной биопсии печени на площади до 5–7 см. Вводили 5 мл взвеси МСК из расчета  $1 \times 10^6/\text{кг}$  массы тела — по 1 мл в 5 точек на глубину 2–2,5 см.

## Дизайн исследования

Во время первой госпитализации пациентов проводилось комплексное лабораторное и инструментальное обследование, выполнялась пункционная биопсия печени (ПБП), производился забор костного мозга.

При каждом посещении пациентов проводились медицинские осмотры, регистрировалась информация о наличии/отсутствии таких симптомов как повышение температуры, общей слабости, тошноты, рвоты, болей в животе.

Через 1 мес. при повторной госпитализации пациентов выполнялась интрапаренхимальная трансплантация МСК.

Лабораторные тесты (исследование АЛТ, АСТ, билирубина, ГГТП, мочевины, креатинина, ЩФ, холестерина, общего белка, альбумина), определение MELD [19] и вирусная нагрузка выполнялись через 12 и 24 недели



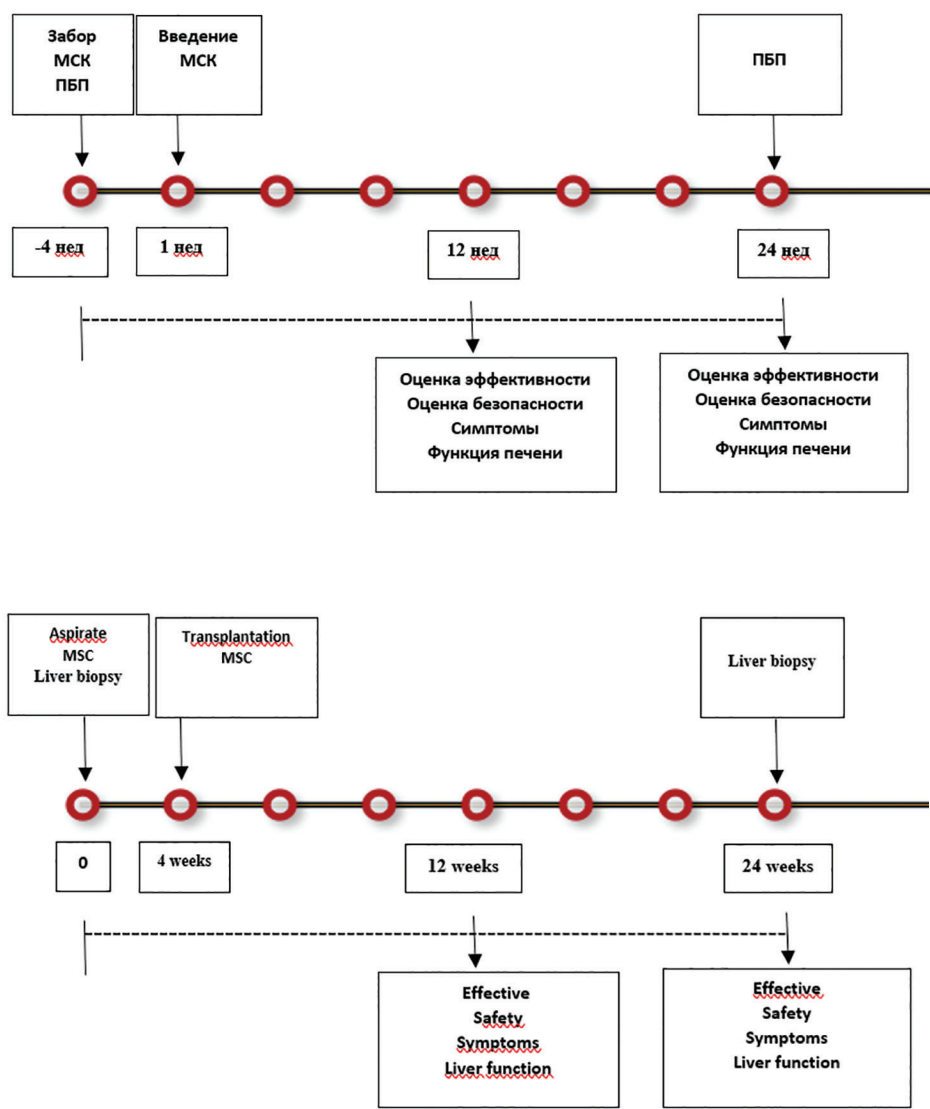


Рисунок 1. Схема (контрольные точки) наблюдения пациентов

Figure 1. Scheme (control points) of patient observation

после трансплантации. Если у пациента выполнялся один и тот же биохимический показатель несколько раз в одной и той же контрольной точке, для анализа выбирали среднее значение. Через 24 недели дополнительно выполнялась ПБП (рис.1). В течение всего периода наблюдения медикаментозного лечения пациентам не проводилось.

**Первичная конечная точка эффективности:** доля пациентов, достигших снижения баллов по показателям MELD и Чайлд-Пью и лабораторных показателей через 6 мес. после трансплантации МСК.

**Вторичная конечная точка эффективности:** доля пациентов, достигших регрессии цирроза через 6 мес. после трансплантации МСК.

Оценка безопасности

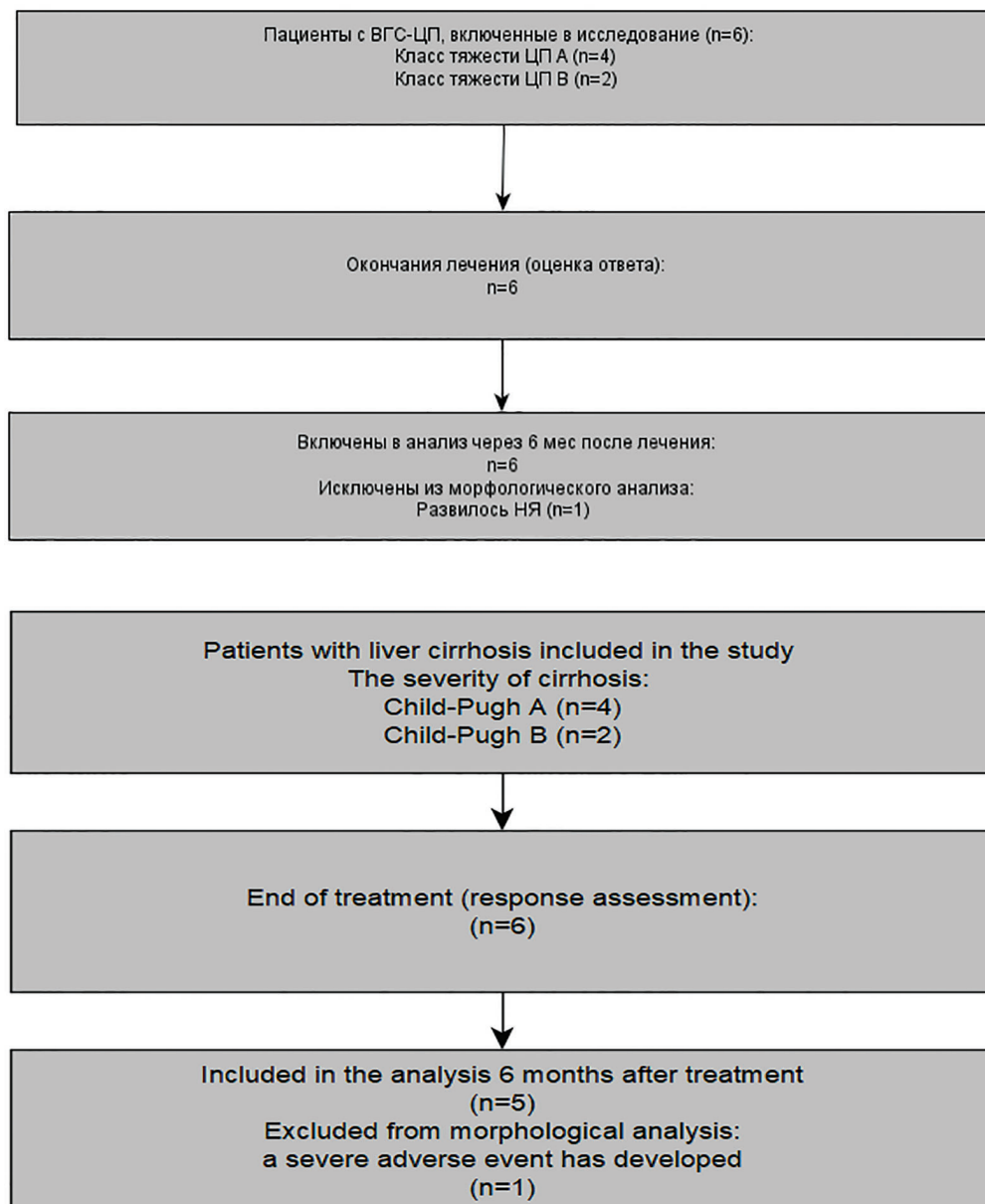
Безопасность трансплантации МСК оценивали у всех пациентов. Оценка включала регистрацию нежелательных явлений (НЯ) с момента трансплантации МСК и до 6 мес. после трансплантации или окончания

участия в исследовании, изменение показателей жизненно важных функций, результаты клинических лабораторных анализов.

Соблюдение этических норм

Исследование было одобрено комиссией по этике научных исследований у человека и проведено в соответствии с принципами, изложенными в Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации, а также с принципами Надлежащей клинической практики Международного совета по гармонизации. Перед включением в исследование пациенту предоставляли информацию о целях и методах исследования, а также возможных рисках, связанных с участием в исследовании. У каждого пациента получали письменное информированное согласие на участие. Обработка данных, собранных в ходе исследования, осуществлялась в соответствии с принципами конфиденциальности информации о пациентах.

**Рисунок 2.** Схема распределения пациентов, включенных в исследование



**Figure 2.** Scheme of distribution of patients included in the study

## Статистический анализ

Описательные статистики количественных параметров представлены медианой и размахом в виде Me (min; max) с учетом малого размера выборки. Сравнения исходных параметров и посттрансплантационных (через 3 и 6 месяцев) проводились по критерию Вилкоксона для парных измерений без учета поправки на множественные сравнения.

Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Расчёты проводились в статистическом пакете R (The R Project for Statistical Computing, R version 3.6.3., Austria) [20].

## Результаты исследования

В анализ включены 6 пациентов с ВГС-ЦП (рис. 2), полностью выполнившие протокол исследования.

Средний возраст пациентов в исследуемой популяции составлял  $44 \pm 6$  лет (от 37 до 53 лет); женщин — 3,

мужчин — 3. У всех пациентов этиологическим фактором был вирус гепатита С (ВГС).

У 4 пациентов тяжесть ЦП по классификации Чайлд-Пью соответствовала классу А, у 2 пациентов — классу В. Данные представлены в таблице 1.

При включении в исследование все пациенты имели проявления астеновегетативного (общая слабость, быстрая утомляемость) и диспепсического синдромов (периодические боли или чувство тяжести в правом подреберье, тошнота, отсутствие аппетита), а также клинические признаки портальной гипертензии: спленомегалия (n=6), варикозное расширение вен пищевода (n=6). Кроме того, у 2 пациентов в анамнезе имелось указание на однократный эпизод асцита, который был сразу купирован, и на момент включения в исследования отсутствовал. У 3 пациентов наблюдалась желтушность кожных покровов и склер. У 1 пациентки были признаки криоглобулинемического васкулита. У всех пациентов отсутствовали клинические признаки печеночной энцефалопатии. Данные представлены в таблице 2.

## Результаты наблюдения

Все пациенты сохраняли комплаентность на протяжении всего периода после введения МСК, и через 6 мес. госпитализировались для оценки результатов лечения.

Все сообщали о субъективном улучшении самочувствия к 6 мес. после введения МСК: уменьшении, а затем исчезновении клинических признаков астеновегетативного и диспепсического синдромов. Ни у кого из них не усилились признаки портальной гипертензии.

В динамике наблюдения у пациентов было отмечено улучшение функции печени. Через 6 мес. после трансплантации наблюдалось статистически значимое снижение баллов по шкале MELD с 11,5 (9;17) до 8 (6; 10) ( $p=0,035$ ). Однако значительного снижения баллов при оценке по шкале Чайлд-Пью не отмечено. Данные представлены на рисунке 3 и таблице 3.

Таблица 1. Демографическая характеристика пациентов с ВГС-ЦП, включенных в исследование  
Table 1. Demographic characteristics of HCV-LC patients included in the study

Пациенты The patients	Возраст Age	Пол Gender	Этиология Etiology	Класс тяжести по Чайлд-Пью Child-Pugh severity class
П1/Р1	51	Женский Female	ВГС HCV	A
П2/Р2	39	Женский Female	ВГС HCV	A
П3/Р3	37	Мужской Male	ВГС HCV	A
П4/Р4	41	Женский Female	ВГС HCV	A
П5/Р5	46	Мужской Male	ВГС HCV	B
П6/Р6	53	Мужской Male	ВГС HCV	B

Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов с ВГС-ЦП, включенных в исследование  
Table 2. Clinical characteristics of HCV-LC patients included in the study

Клинические данные Clinical data	П1 P1	П2 P2	П3 P3	П4 P4	П5 P5	П6 P6
Диспепсический синдром Dyspeptic syndrome	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Астеновегетативный синдром Asthenovegetative syndrome	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Желтуха Jaundice	Нет No	Нет No	Да Yes	Нет No	Да Yes	Да Yes
Асцит (анамнестически) Ascites (previously)	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No	Да Yes	Да Yes
Варикозное расширение вен пищевода Varicose veins of the esophagus	1 ст. 1st degree	1 ст. 1st degree	1 ст. 1st degree	1 ст. 1st degree	1 ст. 1st degree	2 ст. 2nd degree
Энцефалопатия (клинические проявления) Encephalopathy (clinical manifestations)	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No
Спленомегалия Splenomegaly	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Васкулит Vasculitis	Нет No	Нет No	Нет No	Да Yes	Нет No	Нет No

К 6 мес. после трансплантации отмечено снижение уровня билирубина с 36,4 мкмоль/л до 27 мкмоль/л ( $p=0,03$ ) (рис. 4 и таблица 4).

В динамике наблюдения к 6 мес. после трансплантации у пациентов наблюдался тренд к снижению уровня АлАТ с 110,5 ед/л до 82,7 ( $p=0,062$ ). К 3 и 6 мес. отмечено повышение уровня тромбоцитов: с  $83 \times 10^9/\text{л}$  до  $124,6 \times 10^9/\text{л}$  к 3 мес ( $p=0,031$ ) и  $119,5 \times 10^9/\text{л}$  ( $p=0,031$ ) (табл. 4). Изменений выраженности портальной гипертензии (размеров селезенки и степени ВРВП) в динамике наблюдения не отмечено.

Влияния МСК на уровень вирусной нагрузки через 6 мес. после трансплантации отмечено не было ( $p=0,219$ ) (таблица 5).

По данным морфологического исследования, проведенного методом световой микроскопии, у всех пациентов продолжали сохраняться признаки ЦП.

Через 6 мес. после трансплантации по данным иммуногистохимического анализа статистически значимых изменений показателей трансдифференцировки ЗКИ (по  $\alpha$ -SMA, баллы) ( $p > 0,99$ ) и капилляризации синусоидов (по CD34, баллы) ( $p=0,586$ ) (табл. 6) отмечено не было.

По данным морфологического исследования, проведенного методом световой микроскопии, у всех пациентов продолжали сохраняться признаки ЦП с воспалительной инфильтрацией паренхимы печени.

## Оценка безопасности

Ни у кого из пациентов после проведения трансплантации не было отмечено повышения температуры тела, увеличения уровня АФП и других лабораторных показателей, изменений со стороны жизненно важных функций, а также развития тяжелых осложнений портальной гипертензии (энцефалопатии, гепаторенально-го синдрома, желудочно-кишечного кровотечения).

У одного пациента при госпитализации через 6 мес. после трансплантации МСК был диагностирован тромбоз глубоких вен правой голени, который, возможно, был связан с нарушением венозного оттока или наследственной предрасположенностью. В связи с развившимся НЯ повторная ПБП не проводилась, и пациент был исключен из анализа по морфологическому критерию.

Таким образом, в результате проведенной трансплантации аутологичных МСК из костного мозга (КМ) пациентам с ВГС-ЦП классов тяжести А и В по Чайлд-Пью в паренхиму печени в количестве 10<sup>6</sup>/кг массы тела были выявлены следующие эффекты.

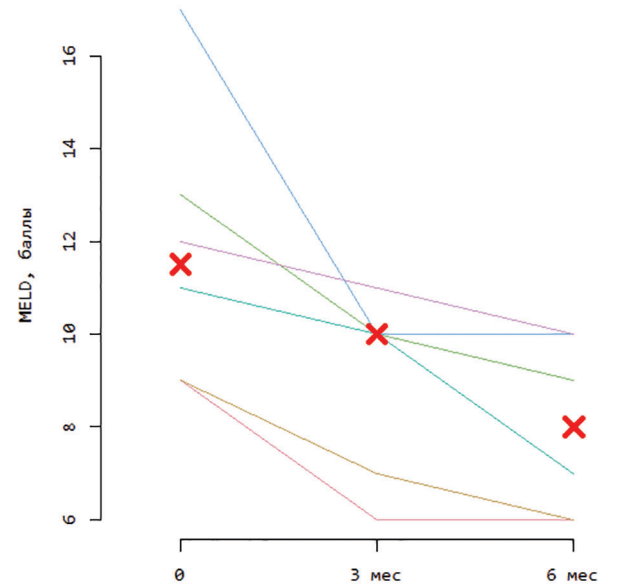
Наблюдалось статистически значимое снижение уровня билирубина (с 36,4 мкмоль/л до 27 мкмоль/л,  $p=0,03$ ) и баллов по показателю MELD (с 11,5 до 8,  $p=0,035$ ) к 6 мес., а также повышение количества тромбоцитов к 3 мес. (с  $83 \times 10^9$ /л до  $124,6 \times 10^9$ /л,  $p=0,031$ ) и 6 мес. (до  $119,5 \times 10^9$ /л,  $p=0,031$ ) после трансплантации.

В то же время к 6 мес. после трансплантации МСК отсутствовало статистически значимое снижение репликативной активности вируса (РНК ВГС в крови) ( $p=0,219$ ), уровней АлАТ ( $p=0,062$ ) и АсАТ ( $p=0,844$ ), баллов по шкале Чайлд-Пью ( $p=0,181$ ), показателей капилляризации синусоидов (по экспрессии CD34+,  $p=0,586$ ) и трансдифференцировки ЗКИ в миофибробласты (по экспрессии  $\alpha$ -SMA,  $p>0,99$ ) по данным иммуногистохимического исследования, сохранились морфологические признаки воспалительной клеточной инфильтрации и цирроза печени по данным световой микроскопии.

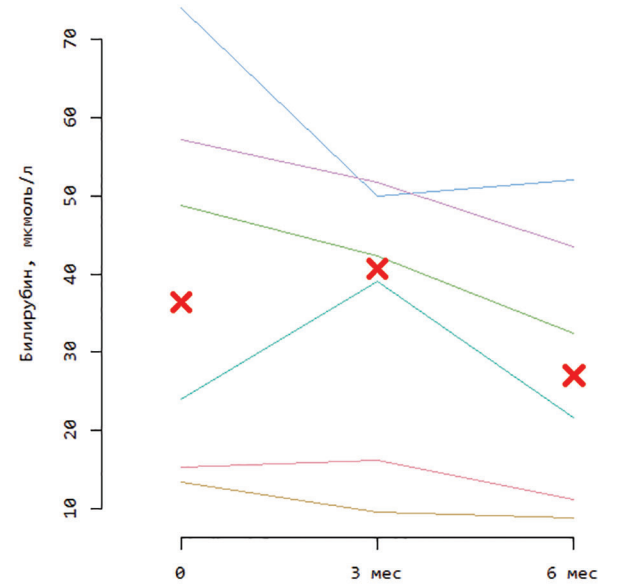
Использованная методика трансплантации МСК не вызвала признаков декомпенсации цирроза у пациентов с классами тяжести А и В по Чайлд-Пью: отсутствовали ухудшения лабораторных показателей и клинические признаки развития тяжелых осложнений портальной гипертензии (энцефалопатии, гепаторенального синдрома, желудочно-кишечного кровотечения).

**Таблица 3.** Динамика тяжести ВГС-ЦП по шкале Чайлд-Пью и MELD через 6 мес. после трансплантации МСК у пациентов, включенных в исследование  
**Table 3.** Dynamics of HCV-LC severity according to Child-Pugh scale and MELD 6 months after MSC transplantation in patients included in the study

Показатель Index	До начала трансплантации (баллы) Before the start of transplantation (points) Me (min; max)	Через 6 мес. после трансплантации (баллы) After 6 months after transplantation (points) Me (min; max)	p
Шкала Чайлд-Пью Child-Pugh scale	6 (5; 10)	5,5 (5; 8)	0,181
MELD scale	11,5 (9;17)	8 (6; 10)	0,035



**Рисунок 3.** Динамика MELD (баллы) у пациентов с ВГС-ЦП через 3 мес. и 6 мес. после трансплантации МСК  
**Figure 3.** Dynamics of MELD (points) in HCV-LC patients after 3 months and 6 months after MSC transplantation



**Рисунок 4.** Динамика уровней билирубина у пациентов с ВГС-ЦП через 3 мес. и 6 мес. после трансплантации МСК  
**Figure 4.** Dynamics of bilirubin levels in patients with HCV-CP after 3 months and 6 months after MSC transplantation



**Обсуждение**

Отсутствие лекарственных средств, которые способны были бы кардинально повлиять на формирование фиброзной ткани, а также значительно улучшить функциональное состояние паренхиматозного печеночного компартмента, приводят к поиску альтернативных способов лечения пациентов с ЦП, особенно в предтрансплантационном периоде. В связи с этим важным направлением лечения терминальной стадии заболеваний печени становится применение стволовых клеток [10].

В исследованиях было показано, что инфузия человеческих МСК может уменьшить фиброз печени у крыс и человека [8, 10]. Кроме того, сообщалось, что трансплантация МСК способствует значительному улучшению функции печени: авторы показали увеличение у пациентов уровней альбумина и холестерина, снижение баллов по шкале MELD и повышение выживаемости пациентов [10, 11, 21]. Наше исследование также продемонстрировало улучшение функции печени: уменьшение уровня билирубина и баллов по шкале MELD.

**Таблица 4.** Динамика лабораторных показателей у пациентов с ВГС-ЦП через 3 мес. и 6 мес. после трансплантации МСК  
**Table 4.** Dynamics of laboratory parameters in patients with HCV-CP after 3 months. and 6 months. after MSC transplantation

Показатель Index	До начала трансплантации Before the start of transplantation Me (min; max)	Через 3 мес. после трансплантации After 3 months after transplantation Me (min; max)	Через 6 мес. после трансплантации After 6 months after transplantation Me (min; max)	P <sub>0-3</sub>	P <sub>0-6</sub>
Билирубин общий, мкмоль/л Total bilirubin, µmol/l	36,4 (13,5; 74)	40,6 (9,6; 51,7)	27 (8,9; 52)	0,437	0,03
АлАТ, ед./л ALAT, units/l	110,5 (79; 212)	80,3 (54,8; 159,8)	82,7 (41; 173)	0,562	0,062
АсАТ, ед./л ASAT, units/l	104,5 (52,9; 232)	100,8 (20; 140,3)	96 (55; 275)	0,312	0,844
ЩФ, МЕ/л ALP, IU/l	217,5 (80,1; 590)	206 (96,7; 260)	228 (101; 312)	0,437	0,844
ГГТП, МЕ/л GGTP, IU/l	84,8 (27,4; 317)	103,5 (14,0; 541,6)	77,6 (12,8; 342,6)	0,437	>0,99
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/l	3,9 (3,03; 6,6)	4,2 (3,2; 5,7)	3,6 (2,75; 5,08)	>0,99	0,177
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	3,9 (2,09; 5,3)	3,1 (2,4; 5,0)	3,6 (2,8; 5,7)	0,094	0,844
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, µmol/L	55,5 (52; 70)	66,5 (57,7; 94)	60,5 (54; 69)	0,094	0,292
Альбумин, г/л Albumin, g/l	39,05 (33,98; 44,3)	39 (32; 48,44)	40,3 (31,4; 45)	0,752	0,787
Общий белок, г/л Total protein, g/l	76,15 (71,1; 85)	72,5 (68; 82,5)	79,8 (75; 86,1)	0,031	0,562
АФП, МЕ/мл AFP, IU / ml	3,17 (2,07; 6,2)	----	4,5 (2,2; 12,18)	N/A	0,562
Тромбоциты, ×10 <sup>9</sup> /л Platelets, ×10 <sup>9</sup> /l	83 (38; 140)	124,6 (85,8; 213)	119,5 (54,5; 205)	0,031	0,031
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л Leukocytes, ×10 <sup>9</sup> /l	4,5 (3,3; 6,4)	4,6 (2,8; 9,6)	4,7 (1,8; 8,2)	>0,99	0,916

**Примечание:** АлАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспартатаминотрансфераза, ЩФ — щелочная фосфатаза, ГГТП — гамма-глутамилтранспептидаза, АФП — альфафетопротеин  
**Note:** ALAT — alanine aminotransferase, ASAT — aspartate aminotransferase, ALP — alkaline phosphatase, GGTP — gamma glutamyl transpeptidase, AFP — alpha-fetoprotein

**Таблица 5.** Динамика вирусной нагрузки у пациентов с ВГС-ЦП через 6 мес. после трансплантации МСК.  
**Table 5.** Dynamics of viral load in patients with HCV-LC after 6 months after MSC transplantation

Показатель Index	До начала трансплантации Before the start of the transplant Me (min; max)	Через 6 мес. после трансплантации After 6 months. after transplant Me (min; max)	p
Вирусная нагрузка (МЕ/мл) Viral load (IU/ml)	286000 (42000; 630000)	155650 (4030; 637000)	0,219

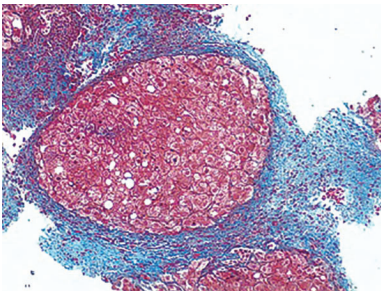
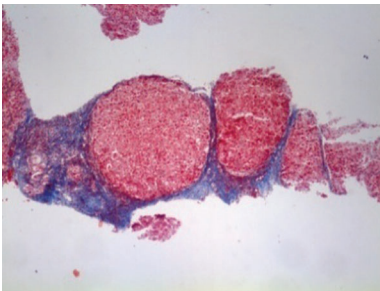
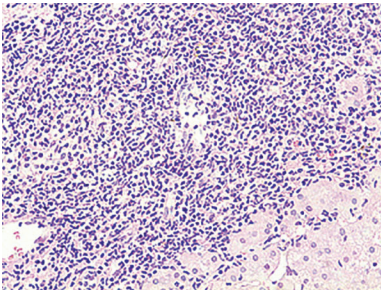
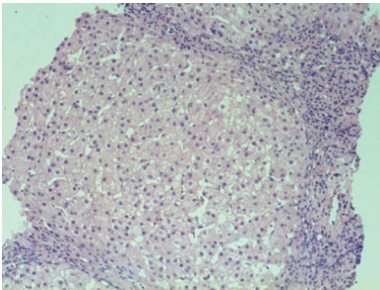
В литературных источниках широко обсуждается вопрос о возможных механизмах действия МСК, приводящих к улучшению функционального резерва печени. Одним из таких механизмов является возможность МСК дифференцироваться в гепатоциты *in vitro* и *in vivo* [2-7]. Весьма вероятно, что МСК, трансплантированные в печень, могут таким образом реализовывать свой потенциал. В то же время, в исследованиях на животных продемонстрировано, что способностью дифференцироваться в гепатоциты обладает только небольшая часть донорских МСК (1–3 %) [6, 7]. Это

позволяет предполагать, что улучшение функции печени происходит еще и за счет иных, дополнительных, механизмов действия донорских клеток. Другое возможное объяснение описанного эффекта заключается в том, что МСК по данным литературы в значительной степени способны усиливать функциональное состояние резидентных гепатоцитов. Они могут секретировать широкий спектр биоактивных молекул (факторы роста и цитокины) и тем самым усиливать пролиферацию гепатоцитов и реваскуляризацию печени. МСК способны предотвращать апоптоз гепатоцитов,

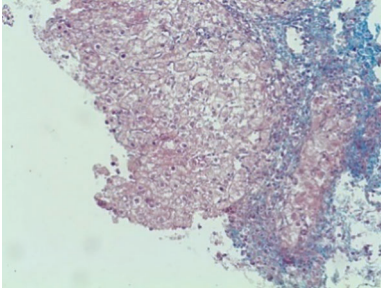
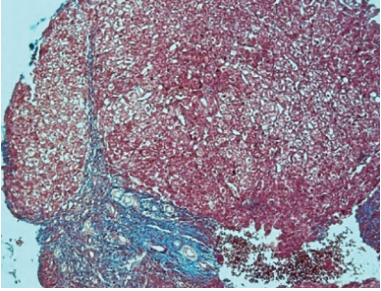
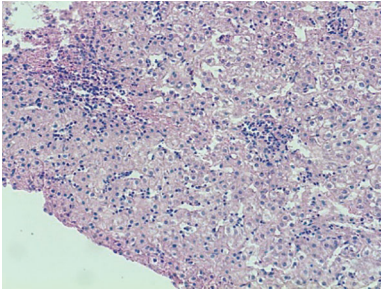
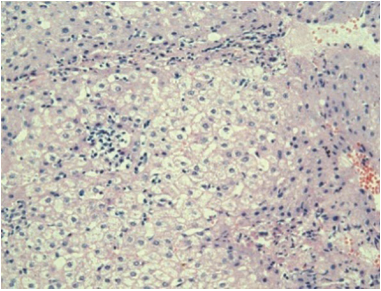
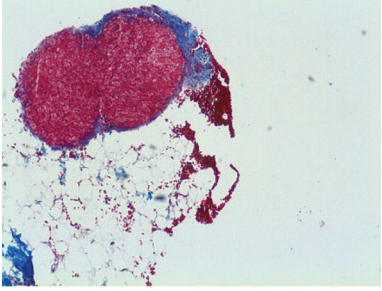
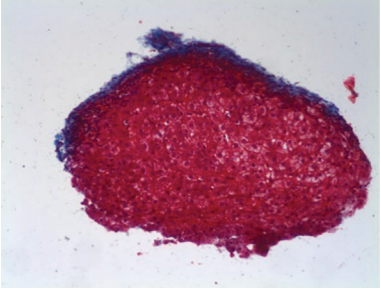
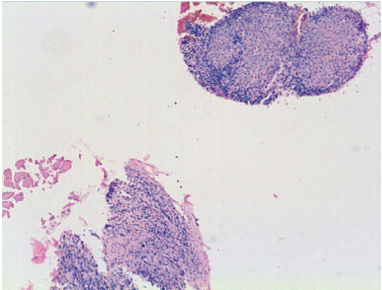
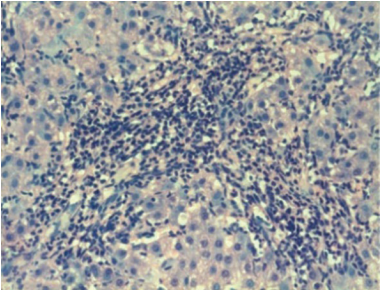
Таблица 6. Динамика показателей  $\alpha$ -SMA и CD34 у пациентов с ВГС-ЦП через 3 мес. и 6 мес. после трансплантации МСК  
Table 6. Dynamics of  $\alpha$ -SMA and CD34 in patients with HCV-LC after 3 months and 6 months after MSC transplantation

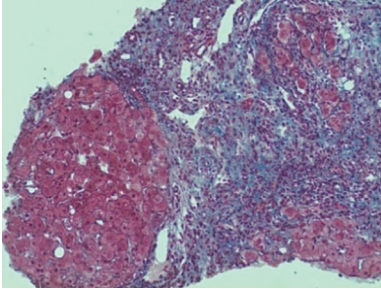
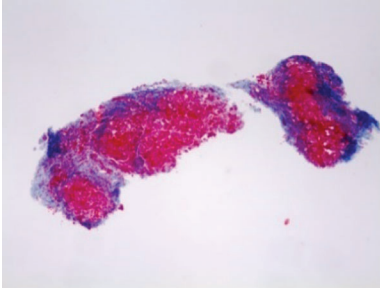
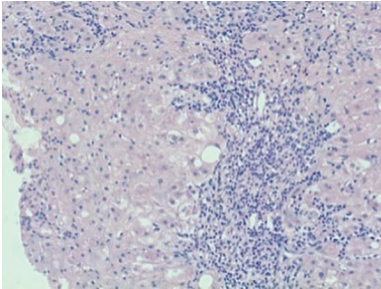
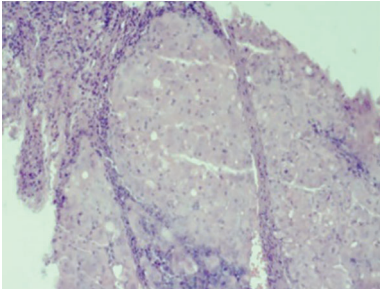
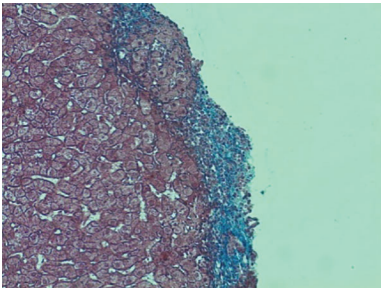
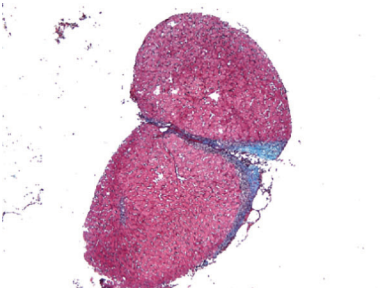
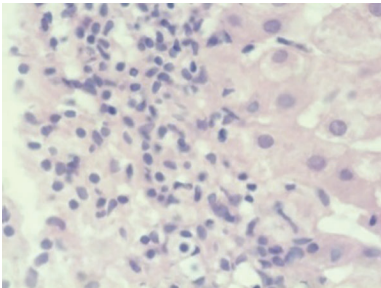
Показатель Index	До начала трансплантации Before the start of the transplant Me (min; max)	Через 6 мес. после трансплантации After 6 months. after transplant Me (min; max)	P <sub>0-6</sub>
$\alpha$ -SMA, баллы	2,5 (2; 3)	3 (1,5; 3)	>0,99
CD34, баллы	2 (1; 3)	2 (1; 2)	0,586

Рисунок 5-9. Динамика морфологических данных по результатам световой микроскопии у пациентов с ВГС-ЦП через 6 мес. после трансплантации МСК  
Figure 5-9. Dynamics of morphological data according to the results of light microscopy in patients with HCV-LC after 6 months MSC transplantation

Пациенты Patients	До начала трансплантации Before the start of the transplant	Через 6 мес. после трансплантации After 6 months. after transplant
П1 P1		
	<p>Рисунок 5а. Микронодулярный цирроз. Окраска по Массону, <math>\times 63</math> Figure 5a. Micronodular cirrhosis. Masson's staining, <math>\times 63</math></p>	<p>Рисунок 5б. Микронодулярный цирроз. Окраска по Массону, <math>\times 63</math> Figure 5b. Micronodular cirrhosis. Masson's staining, <math>\times 63</math></p>
		
	<p>Рисунок 5с. Выраженная инфильтрация в фиброзных септах и перипортально. Окраска гематоксилином и эозином, <math>\times 126</math> Figure 5c. Severe infiltration in fibrous septa and periportal. Staining with hematoxylin and eosin, <math>\times 126</math>.</p>	<p>Рисунок 5д. Слабо выраженная инфильтрация в фиброзных септах и перипортально. Окраска гематоксилином и эозином, <math>\times 126</math> Figure 5d. Weak infiltration in fibrous septa and periportal. Staining with hematoxylin and eosin, <math>\times 126</math>.</p>



Пациенты Patients	До начала трансплантации Before the start of the transplant	Через 6 мес. после трансплантации After 6 months. after transplant
П2 P2	 <p><b>Рисунок 6а.</b> Микронодулярный цирроз. Окраска по Массону.х63 <b>Figure 8a.</b> Micronodular cirrhosis. Masson's staining. x63</p>	 <p><b>Рисунок 6б.</b> Микронодулярный цирроз. Окраска по Массону, х63 <b>Figure 8b.</b> Micronodular cirrhosis. Masson's staining, x63</p>
	 <p><b>Рисунок 6с.</b> Лимфоплазмоцитарная инфильтрация, х63 <b>Figure 6с.</b> Lymphoplasmacytic infiltration, x63</p>	 <p><b>Рисунок 6д.</b> Внутридольковая воспалительная лимфомакрофагальная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином, х126 <b>Figure 6d.</b> Intralobular inflammatory lymphoma-macrophage infiltration. Staining with hematoxylin and eosin, x126</p>
П3 P3	 <p><b>Рисунок 7а.</b> Микронодулярный цирроз. Окраска по Массону, х63 <b>Figure 7a.</b> Micronodular cirrhosis. Masson's staining, x63</p>	 <p><b>Рисунок 7б.</b> Микронодулярный цирроз. Окраска по Массону, х63 <b>Figure 7b.</b> Micronodular cirrhosis. Masson's staining, x63</p>
	 <p><b>Рисунок 7с.</b> Лимфоцитарная инфильтрация, во многих участках проникающих вглубь дольки, х63 <b>Figure 7с.</b> Lymphocytic infiltration, in many areas penetrating deep into the lobule, x63</p>	 <p><b>Рисунок 7д.</b> Выраженная воспалительная лимфо-макрофагальная инфильтрация в фиброзных септах и перипортально. Окраска гематоксилином и эозином, х126. <b>Figure 7d.</b> Severe inflammatory lymph-macrophage infiltration in fibrous septa and periportal. Staining with hematoxylin and eosin, x126.</p>

Пациенты Patients	До начала трансплантации Before the start of the transplant	Через 6 мес. после трансплантации After 6 months. after transplant
П4 P4		
	<p><b>Рисунок 8а.</b> Микронодулярный цирроз. Окраска по Массону, ×126</p> <p><b>Figure 8a.</b> Micronodular cirrhosis. Masson's staining, ×126</p>	<p><b>Рисунок 8б.</b> Микронодулярный цирроз. Окраска по Массону, ×126</p> <p><b>Figure 8b.</b> Micronodular cirrhosis. Masson's staining, ×126</p>
		
	<p><b>Рисунок 8с.</b> Лимфоцитарная инфильтрация, на отдельных участках проникающих вглубь дольки. Окраска гематоксилином и эозином, ×126</p> <p><b>Figure 8c.</b> Lymphocytic infiltration, in some areas penetrating deep into the lobule. Staining with hematoxylin and eosin, ×126</p>	<p><b>Рисунок 8д.</b> Ложная долька. Лимфоцитарная инфильтрация, на отдельных участках проникающих вглубь дольки. Окраска гематоксилином и эозином, ×63</p> <p><b>Figure 8d.</b> False lobule. Lymphocytic infiltration, in some areas penetrating deep into the lobule. Staining with hematoxylin and eosin, ×63</p>
П6 P6		
	<p><b>Рисунок 9а.</b> Макронодулярный цирроз. Окраска по Массону, ×63</p> <p><b>Figure 9a.</b> Macronodular cirrhosis. Masson's staining, ×63</p>	<p><b>Рисунок 9б.</b> Макронодулярный цирроз с воспалительной лимфо-макрофагальной инфильтрацией. Окраска по Массону, ×63</p> <p><b>Figure 9b.</b> Macronodular cirrhosis with inflammatory lympho-macrophage infiltration. Masson's stain, ×63</p>
		
	<p><b>Рисунок 9с.</b> Инфильтрат, проникающий вглубь дольки. Окраска гематоксилином и эозином, ×65</p> <p><b>Figure 9c.</b> Infiltrate that penetrates deep into the lobule. Staining with hematoxylin and eosin, ×65</p>	



существуют указания на их иммуносупрессивные свойства [7, 10]. Весьма вероятно, что в условиях значительного повреждения печени, которое наблюдается при циррозе, МСК обладают потенциалом воздействовать сразу на несколько патогенетических звеньев. Уточнения этих множественных эффектов должно быть доказано проведением дополнительных исследований.

В нашем исследовании для более тщательного контроля эффектов МСК был избран комплексный морфологический подход. Несмотря на то, что мы не нашли признаков, которые позволили бы утверждать, что МСК способны кардинально устранить активность патологического процесса (что является вполне логичным с учетом сохраняющейся репликативной активности вируса), выявленная нами закономерность позволяет сформулировать важный алгоритм действия для клинической практики — сначала устранить этиологический фактор, постоянно стимулирующий в печени активный воспалительный процесс, и одновременно или последовательно прибегнуть к патогенетической терапии МСК с целью улучшения функционального резерва структурно сохранившегося компартмента печени.

Мы показали, что интрапаренхимальная трансплантация МСК не смогла полностью устранить морфологические признаки цирроза печени. В то же время полагаем, что процессы фиброгенеза и фибролиза, постоянно происходящие в ткани печени при циррозе, очень глубоки и динамичны, и не могут быть в полной мере объективизированы применяемой традиционно морфологической шкалой METAVIR. Для более детального анализа необходимы другие дополнительные методы, например, метод электронной микроскопии, при помощи которого нам удалось ранее описать положительную динамику в печени на микроструктурном уровне при трансплантации МСК [22]. Существуют и другие методы, которые пока еще не доступны для применения в клинической практике, но могут использоваться при проведении экспериментальных и клинических исследований. Этот момент должен быть учтен при планировании таких исследований.

Очень важно, что наши результаты демонстрируют безопасность внутрипаренхимальной трансплантации МСК из костного мозга и применимость ее в клинической практике для лечения цирроза печени. В то же время протокол трансплантации МСК требует дальнейшей доработки, и его эффективность должна быть дополнительно оценена в рандомизированных испытаниях.

Настоящее исследование также подчеркивает несколько ключевых вопросов, которые необходимо будет рассмотреть при разработке будущих клинических исследований: уточнить какой тип клеток является наилучшим для применения, уточнить минимально эффективное количество МСК для введения и усовершенствовать с учетом полученных новых данных оптимальный, с точки зрения эффективности и безопасности, способ трансплантации.

## Выводы

1. Введение МСК из КМ пациентам с ВГС-ЦП класса тяжести А и В приводит к улучшению функциональных возможностей печени к 6 мес. после трансплантации, о чем свидетельствует статистически значимое снижение показателей билирубина ( $p=0,03$ ) и MELD ( $p=0,035$ ), и увеличению уровней тромбоцитов ( $p<0,05$ ) к 3 и 6 мес. после трансплантации.
2. В то же время трансплантации МСК не приводит к статистически значимому снижению показателей репликативной активности ВГС ( $p=0,219$ ), цитолитической активности процесса (по уровням АлАТ ( $p=0,062$ ) и АсАТ ( $p=0,844$ )), иммуногистохимических показателей фиброгенеза (по экспрессии CD34+ ( $p=0,586$ ) и  $\alpha$ -SMA ( $p>0,99$ )), а также баллов по шкале Чайлд-Пью ( $p=0,181$ ).
3. Используемая методика трансплантации МСК является безопасной процедурой (отсутствовали изменения со стороны лабораторных показателей и тяжелые осложнения: энцефалопатия, гепато-ренальный синдром, кровотечения) для пациентов с ВГС-ЦП классов тяжести А и В.
4. Учитывая безопасность интрапаренхимальной трансплантации МСК из КМ и выявленные эффекты после ее проведения (улучшение функциональных возможностей печени, отсутствие влияния на репликативную активность ВГС, связанное с вирусом сохранение активности печеночного процесса), можно рекомендовать проведение дальнейших исследований для усовершенствования подходов к лечению пациентов с ВГС-ЦП. Одним из них мог бы стать комплексный подход с первоочередным назначением пациентам препаратов прямого действия против ВГС и последующей трансплантацией МСК, как одного из направлений патогенетической терапии, что позволило бы элиминировать вирус, устранить активность воспалительного процесса и повысить функциональные возможности сохранившегося паренхиматозного компартмента печени.

## Вклад авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией

**Лукашик С.П.** (<https://orcid.org/0000-0002-3641-3777>): концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста статьи, размещение статьи на сайте журнала

**Алейникова О.В.:** концепция и дизайн исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, редактирование

**Цыркунов В.М.:** концепция и дизайн исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, редактирование

**Карпов И.А.:** концепция и дизайн исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, редактирование

**Исайкина Я.И.:** написание текста статьи, перевод резюме на английский язык

**Красько О.В.:** статистическая обработка данных



**Author Contribution:**

All the authors contributed significantly to the study and the article, read and approved the final version of the article before publication

**Lukashyk S.P.** ([https://orcid.org/ORCID\\_ID:0000-0002-3641-3777](https://orcid.org/ORCID_ID:0000-0002-3641-3777)): research concept and design, data collection and processing, writing article, article editing, placing an article on the journal site

**Aleinikova O.V.:** research concept and design, verification of critical intellectual content, article editing

**Tsyrukunov V.M.:** research concept and design, verification of critical intellectual content, article editing

**Karpov I.A.:** research concept and design, verification of critical intellectual content, article editing.

**Isaykina Y.I.:** writing article, translation of the resume in English

**Krasko O.V.:** statistical processing of materials for the article

**Список литературы / References:**

- Woodbury D, Schwarz E.J., Prockop D.J. et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res.* 2000; 61(4): 364-370. doi: 10.1002/1097-4547 (20000815) 61: 4 <364 : AID-JNR2> 3.0.CO; 2-C.
- Lee K-D, Kuo T. K-C, Whang-Peng J. et al. In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology.* 2004; 40(6): 1275-1284. doi: 10.1002/hep.20469.
- Sato Y., Araki H., Kato J. et al. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion. *Blood.* 2005; 106(2): 756-763. doi: 10.1182/blood-2005-02-0572.
- Baharvand H., Hashemi S.M., Ashtiani S.K. et al. Differentiation of human embryonic stem cells into hepatocytes in 2D and 3D culture systems in vitro. *Int J Dev Biol.* 2006; 50(7): 645-652. doi: 10.1387/ijdb.052072hb.
- Takatsugu T., Yoshikawa M., Kanda S. et al. In vitro differentiation of embryonic stem cells into hepatocyte-like cells identified by cellular uptake of indocyanine green. *Stem Cells.* 2002; 20(2): 146-154. doi: 10.1634/stemcells.20-2-146.
- Körbling M., Katz R.L., Khanna A. et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med.* 2002; 346(10): 738-746. doi: 10.1056/NEJ-Moa3461002.
- Theise N.D., Nimmakayalu M., Gardner R. et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology.* 2000; 32(1): 11-16. doi: 10.1053/jhep.2000.9124.
- Zhao D-C., Lei J-X, Chen R. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells protect against experimental liver fibrosis in rats. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(22): 3431-3440. doi: 10.3748/wjg.v11.i22.3431.
- Sakaida I., Terai S., Yamamoto N. et al. Transplantation of bone marrow cells reduces CCl4-induced liver fibrosis in mice. *Hepatology.* 2004; 40(6): 1304-1311. DOI: 10.1002 / hep.20452.
- Лазебник Л.Б., Голованова Е.В., Слупская В.А. и др. Мезенхимальные стволовые клетки в лечении хронических заболеваний печени — от эксперимента к клинической практике. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2012; 6: 13–18. Lazebnik L.B., Golovanova E.V., Slupskaja V.A. et al. Mezenhimal'nye stvolovye kletki v lechenii hronicheskikh zaboolevanij pecheni — ot jeksperimenta k klinicheskoy praktike. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija.* 2012; 6: 13–18. [In Russian]
- Esmailzadeh A., Ommati H., Kooshyar M.M. et al. Autologous Bone Marrow Stem Cell Transplantation in Liver Cirrhosis after Correcting Nutritional Anomalies, A Controlled Clinical Study. *Cell J.* 2019; 21(3): 268–272. doi: 10.22074/cellj.2019.6108.
- Woodbury D., Schwarz E.J., Prockop D.J. et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res.* 2000; 61(4): 364-370. doi: 10.1002/1097-4547(20000815)61:4<364::AID-JNR2>3.0.CO;2-C.
- Kotkas I.E., Enukashvili N., Asadulayev Sh.M. et al. Autologous mesenchymal stem cells in treatment of liver cirrhosis: evaluation of effectiveness and visualization method. *Science and Innovations in Medicine.* 2020; 5(3): 197-203. doi:10.35693/2500-1388-2020-5-3-197-203.
- Pugh R.N., Murray-Lyon I.M., Dawson J.L. et al. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.* 1973; 60: 646. PubMed ID: 4541913
- Child CG, Turcotte JG. The Liver and Portal Hypertension. Philadelphia, WB Saunders Co. 1964. NLMN ID: 46218.
- Trey C, Burns DG, Saunders SJ. Treatment of hepatic coma by exchange blood transfusion. *NEJM.* 1966; 274: 473. PubMed ID: 5904286.
- Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С. и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по лечению осложнений цирроза печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2018; 26(4): 71-102. doi.org/10.22416/1382-4376-2016-26-4-71-102.
- Ivashkin V.T., Maevskaja M.V., Pavlov Ch.S. i dr. Klinicheskie rekomendacii Rossijskogo obshhestva po izucheniju pecheni i Rossijskoj gastrojenterologicheskoy associacii po lecheniju oslozhnenij cirroza pecheni. *Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii.* 2016; 26(4): 71-102 [In Russian]
- Способ экспансии мезенхимальных стволовых клеток: пат. 11560 Респ. Беларусь от 10.27.2008 /Я.И. Исайкина, О.В. Алейникова: заявитель Респ. науч.-практ. центр детской онкологии и гематологии. — № а20070657; заяв. 31.05.2007; опубл. 25.02.2009// Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. 2009; 1: 93.
- Patrick S. Kamath P.S., Kim W.R. The model for end stage liver disease (MELD). *Hepatology.* 2007; 45(3): 797-805. doi: 10.1002/hep.21563.
- The R Project for Statistical Computing. R version 3.6.3. 2020. [Electronic resource] URL:<https://www.r-project.org/>. (date of the application: 09.12.2020).
- Shi M., Zhang Z., Xu R. et al. Human Mesenchymal Stem Cell Transfusion Is Safe and Improves Liver Function in Acute-on-Chronic Liver Failure Patients. *Stem cells translational medicine.* 2012; 1: 725–731. doi:10.5966/sctm.2012-0034.
- Лукашук С.П., Аленикова О.В., Цыркунов В.М., Исайкина Я.И., Кравчук Р.И. МОНИТОРИНГ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫХ В ПЕЧЕНЬ ПРИ ВИРУСНОМ ЦИРРОЗЕ (клиническое наблюдение). *Архивъ внутренней медицины.* 2018; 8(2): 150-160. <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2018-8-2-150-160>
- Lukashyk S.P., Aleinikova O.V., Tsyrukunov V.M., Isaykina Y.I., Kravchuk R.I. MONITORING OF MORPHOLOGICAL EFFECTS AUTOLOGICAL MESENCHYMAL STEM CELLS, TRANSPLANTED IN LIVER WITH VIRUS CYRROSIS (clinical observation). *The Russian Archives of Internal Medicine.* 2018; 8(2): 150-160. <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2018-8-2-150-160> [In Russian]