

УДК 576.3/7.086.83:612.014+616.3

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ДИФFUЗНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ

И.Е. Коткас, Н.И. Енукашвили, Ш.М. Асадулаев

*ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

Увеличение количества пациентов с диффузными заболеваниями печени, отсутствие эффективности от консервативных способов лечения, дающих длительные и стабильные результаты, способствуют поиску альтернативных способов лечения. Цель: оценка эффективности использования аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в лечении пациентов с диффузными заболеваниями печени. Материалы и методы: в исследовании принимали участие 2 группы пациентов по 20 человек в каждой. В основную группу вошли пациенты, у которых в качестве терапии использовали введенные в сосудистое русло печени аутологичные мезенхимальные стволовые клетки (20–25 млн). В контрольную группу вошли пациенты, которым в качестве терапии применяли L-орнитин-L-аспартат по 1 пакетику 3 раза в день в течение 30 дней. Контрольные показатели для оценки эффективности лечения определяли через 1, 3 и 6 мес. после проведения терапии. Результаты: в основной группе через 3 мес. после лечения отмечали нормализацию уровня тромбоцитов, тогда как в контрольной группе тромбоциты не достигли нормальных показателей и через 6 мес. после лечения. Через 1 мес. после лечения в основной группе нормализовался уровень печеночных ферментов. Достигнутый результат сохранялся и через 6 мес. после лечения. В контрольной группе на протяжении всего наблюдения уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы и гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) находился выше нормы; уровень аспаратаминотрансферазы (АСТ) нормализовался к 3-му мес. после лечения и затем через 6 мес. от начала терапии снова превысил нормальные показатели. Функциональное состояние печени по результатам лидокаинового теста через 6 мес. после лечения нормализовалось у 70 % пациентов основной группы и у 25 % пациентов контрольной группы. Проявления энцефалопатии регрессировали у 65 % пациентов основной группы и у 10 % контрольной группы. Через 6 мес. после лечения в основной группе отсутствовали пациенты с низким и сниженным уровнем субъективного комфорта, тогда как в контрольной группе таких пациентов было 45 и 35 % соответственно. Осложнений на фоне использования клеточных технологий не выявлено. Выводы: использование клеточных технологий является эффективным и безопасным способом лечения пациентов с диффузными заболеваниями печени. Продолжение исследований в данном направлении в последующем поможет создать алгоритмы использования стволовых клеток в лечении пациентов с диффузными заболеваниями печени.

Ключевые слова: клеточные технологии, мезенхимальные стволовые клетки, диффузные заболевания печени, АЛТ, АСТ.

DOI 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-88-92

EFFICIENCY OF USING CELLULAR TECHNOLOGIES IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH DIFFUSE LIVER DISEASES

I.E. Kotkas, N.I. Enuakashvili, Sh.M. Asadulaev

*FSBEI HE «Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov»
of Public Health Ministry of the Russian Federation*

The increase in the number of patients with diffuse liver diseases, the lack of efficacy from conservative treatments that produce long-lasting and stable outcomes, contribute to the search for alternative treatments. The goal is to assess the effectiveness of using autologous mesenchymal stem cells in treating patients with diffuse liver disease. Materials and methods: the study involved 2 groups of patients of 20 people each. The main group included patients who used autologous mesenchymal stem cells (20–25 million) introduced into the vascular liver channel as therapy. The control group included patients who were treated with L-ornithine-L-aspartate 1 package 3 times a day for 30 days. Benchmarks for evaluation of treatment effectiveness were determined 1, 3 and 6 months after the therapy. Results: in the main group, 3 months after treatment, a normalization of platelet levels was observed, whereas in the control group, platelets did not reach normal values and 6 months after treatment. 1 month after treatment, hepatic enzyme levels were normalized in the main group. The result was maintained 6 months after treatment. In the control group, the level of alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transpeptidase (GGTP) was above normal throughout the observation; the level of aspartate aminotransferase (AST) normalized to 3 months after treatment and then exceeded normal levels again 6 months from the start of therapy. The functional state of the liver according to the results of the lidocaine test at 6 months after treatment was normalized in 70 % of patients of the main group and in 25 % of patients of the control group. Manifestations of encephalopathy regressed in 65 % of patients in the main group and in 10 % of the control group. After 6 months of treatment, patients with low and reduced level of subjective comfort were absent in the main group, while in the control group such patients were 45 and 35 %, respectively. No complications have been identified against the background of the use of cellular technologies. Findings: the use of cellular technologies is an effective and safe way to treat patients with diffuse liver

disease. Continuing research in this direction in the future will help to create algorithms for the use of stem cells in the treatment of patients with diffuse liver diseases.

Key words: cell technology, mesenchymal stem cells, diffuse liver disease, ALT, AST.

Каждый год здравоохранение различных стран мира отмечает рост количества пациентов с диффузными заболеваниями печени, возникающими в результате воздействия различных факторов. Более 30 млн человек во всем мире страдают алкогольной болезнью печени, более 10 млн – неалкогольным стеатогепатитом [2], более 170 млн человек поставлен диагноз хронического вирусного гепатита С [5]. Для Российской Федерации алкоголизм является достаточно серьезной проблемой. Так, практически 10 млн человек в РФ поставлен диагноз алкоголизма. Алкогольная болезнь печени занимает достаточно большую долю среди диффузных заболеваний печени – порядка 30 % [6]. При этом от 8 до 20 % случаев при алкогольной болезни печени трансформируется в цирроз [3]. При исследованиях выявляется корреляционная связь между количеством алкоголя, употребляемым населением и уровнем смертности от цирроза печени [1]. Увеличивающееся количество пациентов с измененной функцией печени, дороговизна и низкая эффективность применяемой терапии способствует рассмотрению альтернативных методик лечения, одним из вариантов которой является трансплантация стволовых клеток [4, 7].

Ниже мы представляем результаты нашего исследования по оценке эффективности использования аутологичных мезенхимальных стволовых клеток у пациентов с диффузными заболеваниями печени алкогольной этиологии.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка эффективности использования клеточных технологий в лечении пациентов с диффузными заболеваниями печени.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Было выделено 2 группы. Условиями включения в данные группы были следующие характеристики: возраст от 30 до 60 лет, изменение биохимических показателей крови, алкогольная этиология изменений печени (при этом необходимым условием был отказ от алкоголя в течении 5 лет и более), отсутствие асцита, по данным эластографии печени F3-4. В основную и контрольную группу вошло по 20 человек. Средний возраст в контрольной группе составил $(49 \pm 5,5)$ года, в основной – $(52,6 \pm 3,9)$ года ($p = 0,1$). В контрольной группе было 17 мужчин и 3 женщины; в основной – 18 мужчин и 2 женщины. В основной группе в качестве лечения применялись клеточные технологии в виде непосредственного введения в артериальное или венозное русло печени аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в количестве в среднем 25–30 млн. В контрольной группе

в качестве терапии применяли L-орнитин-L-аспартат по 1 пакету 3 раза в день в течение 30 дней.

Через 1, 3 и 6 мес. после лечения выполнялись контрольные анализы крови, оценка уровня энцефалопатии и изменения субъективных ощущений пациента. Через 1, 3, 6 и 12 мес. после лечения выполнялась эластография печени и лидокаиновый тест. Стадии энцефалопатии оценивались по С.Д. Подымовой (2005). Для оценки энцефалопатии использовался тест связи чисел, тест линий. Для субъективной оценки состояния пациенты выполняли тест субъективной комфортности (А.Б. Леонов). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 10.0 и Microsoft Excel 2010. Статистически значимыми считались показатели $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В клиническом анализе крови, выполненном до начала лечения, в обеих группах отмечалась тромбоцитопения (табл. 1). Достоверных различий между двумя группами до начала терапии не выявлено ($p = 0,569$).

Таблица 1

Уровень тромбоцитов ($10^9/\text{л}$) в контрольной и основной группах до начала лечения

| Группа | Valid N | Mean | Std. Dev. | Minimum | Maximum | Median | Lower Quartile | Upper Quartile |
|-------------|---------|--------|-----------|---------|---------|--------|----------------|----------------|
| Контрольная | 20 | 174,74 | 37,17 | 118,7 | 218,4 | 184,85 | 138,65 | 206,6 |
| Основная | 20 | 165,73 | 59,63 | 69 | 251,2 | 159,05 | 108,4 | 225,5 |

На рис. 1 представлена динамика уровня тромбоцитов в обеих группах.

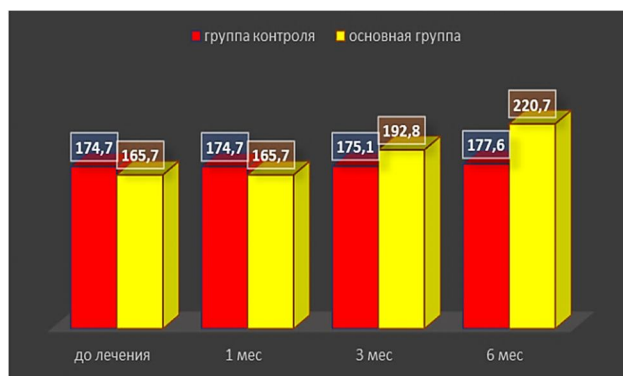


Рис. 1. Динамика уровня тромбоцитов ($10^9/\text{л}$) в контрольной и основной группах через 1,3 и 6 мес. после начала лечения

Таблица 5

Начиная с третьего месяца, в основной группе отмечается рост уровня тромбоцитов. Через 6 мес. после начала лечения отмечается стойкое увеличение уровня тромбоцитов в основной группе и сохранение показателей в пределах нормальных значений. В контрольной группе нормализации показателей не отмечено. Сравнение динамики роста тромбоцитов в обеих группах статистически достоверно ($p = 0,0000$).

В обеих группах до начала лечения у пациентов зафиксировано повышение уровня печеночных ферментов (табл. 2–5).

Таблица 2

Уровень АЛТ (Е/л) до начала лечения в группе контроля и в основной группе (норма АЛТ 0-35 Е/л)*

| Группа | Valid N | Mean | Std.Dev. | Minimum | Maximum | Median | Lower Quartile | Upper Quartile |
|-------------|---------|-------|----------|---------|---------|--------|----------------|----------------|
| Контрольная | 20 | 63,87 | 6,18 | 53,7 | 72,9 | 64,8 | 58,55 | 68,8 |
| Основная | 20 | 65,55 | 4,83 | 55,4 | 72,9 | 66,05 | 63 | 69,05 |

*Достоверных различий между группами до начала лечения не выявлено ($p = 0,345$).

Таблица 3

Уровень АСТ (Е/л) до начала лечения в группе контроля и в основной группе (норма АСТ 0-32 Е/л)*

| Группа | Valid N | Mean | Std.Dev. | Minimum | Maximum | Median | Lower Quartile | Upper Quartile |
|-------------|---------|-------|----------|---------|---------|--------|----------------|----------------|
| Контрольная | 20 | 50,35 | 5,86 | 40 | 61,1 | 50,25 | 45,85 | 55,9 |
| Основная | 20 | 53,80 | 3,84 | 46,8 | 64,3 | 54 | 51,5 | 56,05 |

*Достоверных различий между группами до начала лечения не выявлено ($p = 0,034$).

Таблица 4

Уровень щелочной фосфатазы (Е/л) до начала лечения в группе контроля и в основной группе (норма 0-120 Е/л)*

| Группа | Valid N | Mean | Std.Dev. | Minimum | Maximum | Median | Lower Quartile | Upper Quartile |
|-------------|---------|--------|----------|---------|---------|--------|----------------|----------------|
| Контрольная | 20 | 218,17 | 13,22 | 196,4 | 237,6 | 218,45 | 204,95 | 229,55 |
| Основная | 20 | 228,64 | 13,43 | 201,2 | 248,3 | 232,85 | 221,55 | 237,55 |

*Достоверных различий между группами до начала лечения не выявлено ($p = 0,031$).

Уровень ГГТП (Е/л) до начала лечения в группе контроля и в основной группе (норма 0-40 Е/л)*

| Группа | Valid N | Mean | Std.Dev. | Minimum | Maximum | Median | Lower Quartile | Upper Quartile |
|-------------|---------|--------|----------|---------|---------|--------|----------------|----------------|
| Контрольная | 20 | 122,39 | 5,96 | 112,5 | 135,8 | 121,9 | 118,5 | 126 |
| Основная | 20 | 118,32 | 7,11 | 104,7 | 131,4 | 118,95 | 113,9 | 122,5 |

*Достоверных различий между группами до начала лечения не выявлено ($p = 0,06$).

Динамика уровня печеночных ферментов отражена на рис. 2–5.

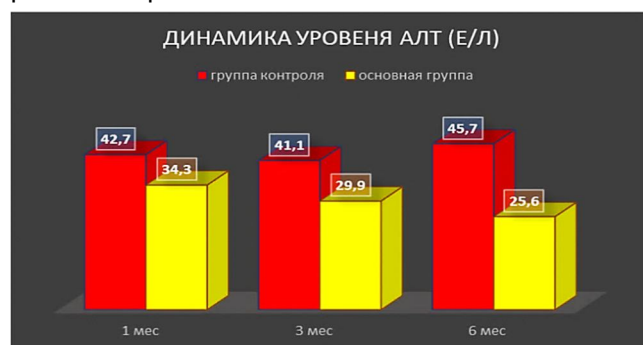


Рис. 2. Динамика средних значений уровня АЛТ (Е/л) в контрольной и основной группах через 1, 3 и 6 мес. после начала лечения



Рис. 3. Динамика средних значений уровня АСТ (Е/л) в контрольной и основной группах через 1, 3 и 6 мес. после начала лечения

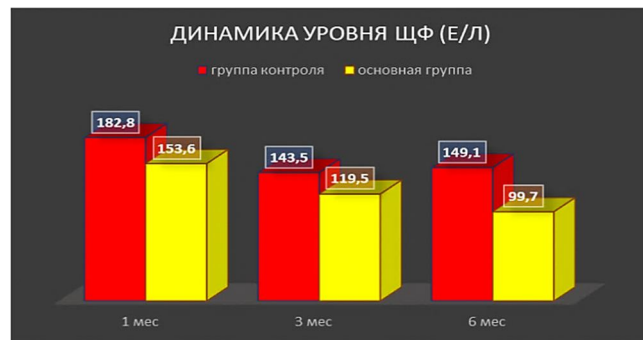


Рис. 4. Динамика средних значений уровня щелочной фосфатазы (Е/л) в контрольной и основной группах через 1, 3 и 6 мес. после начала лечения

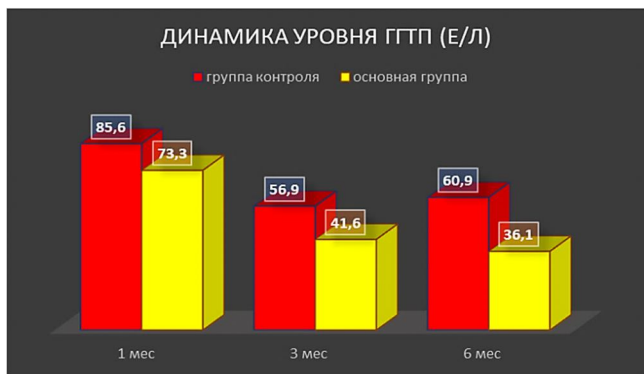


Рис. 5. Динамика средних значений уровня ГГТ (Е/л) в контрольной и основной группах через 1, 3 и 6 мес. после начала лечения

Как видно из вышепредставленных диаграмм, в основной группе уже в течение первого месяца отмечалось снижение значений уровня печеночных ферментов, которые приближались к нормальным. Помимо снижения уровня печеночных ферментов, в основной группе нормальные показатели сохраняются через 3 и 6 мес. после лечения, тогда как в группе контроля изначально отмечалось снижения показателей, а к 6 мес. после терапии уровень показателей начинает расти. И также необходимо отметить, что нормальные показатели в группе контроля достигались лишь в единичных случаях. Как при сравнении показателей обеих групп, так и при сравнении динамических изменений показателей выявлены достоверные значимые различия ($p = 0,0000$).

Также всем пациентам обеих групп была выполнена эластография печени до лечения и через 1, 3, 6 и 12 мес. после терапии. На рис. 6 представлена динамика показателей.



Рис. 6. Динамика средних значений показателей эластографии печени в основной и контрольной группах

Как видно по результатам диаграммы, в основной группе отмечается снижение уровня показателей по сравнению с контрольной группой. Однако достоверно значимых различий между показателями групп не выявлено, как до лечения, так и через 1, 3, 6 и 12 мес. после лечения ($p = 0,432$; $p = 0,431$; $p = 0,431$; $p = 0,854$; $p = 0,814$ соответственно).

До начала лечения и на фоне терапии пациенты проходили тесты для оценки состояния субъективного комфорта и для выявления стадии энцефалопатии. Динамика изменения состояния субъективного комфорта отражена на рис. 7.

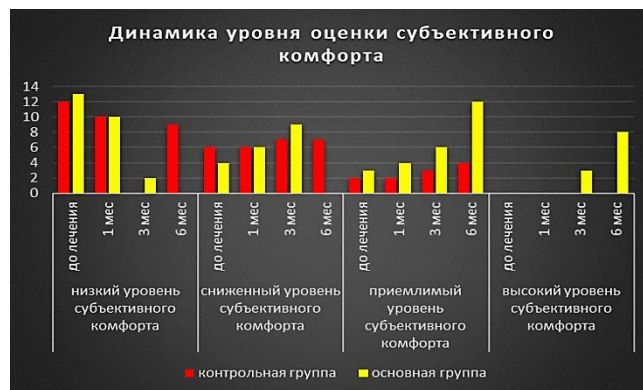


Рис. 7. Динамика уровня оценки состояния субъективного комфорта у пациентов основной и контрольных групп

Как видно на представленной диаграмме, основные улучшения самочувствия начинают проявляться через 3 мес. после лечения. Через 6 мес. после начала лечения в основной группе отсутствует низкий и сниженный уровень субъективного комфорта. Через 6 мес. от начала лечения 60 % основной группы оценивали свое состояние на приемлемом уровне субъективного комфорта, 40 % – на уровне высоком уровне. Тогда как в контрольной группе через 6 мес. после лечения 45 % пациентов оценивали свое состояние на низком уровне субъективного комфорта, 35 % – на сниженном уровне и 20 % – на приемлемом уровне субъективного комфорта ($p = 0,0000$).

Улучшения отмечаются как в основной, так и в контрольной группе. Однако через 6 мес. после лечения наиболее значимые изменения отмечаются в основной группе, где у 85 % пациентов нет проявлений энцефалопатии, у 10 % – субклиническая стадия и у 5 % – 1-я стадия. Тогда как в контрольной группе у 55 % нет проявлений энцефалопатии, у 35 % – субклиническая стадия и у 10 % – 1-я стадия ($p = 0,00096$), рис. 8.



Рис. 8. Динамика стадии энцефалопатии у пациентов основной и контрольных групп

Для оценки функционального состояния печени до начала лечения и через 1, 3 и 6 месяцев после лечения выполнялся лидокаиновый тест (MEGX), рис. 9.

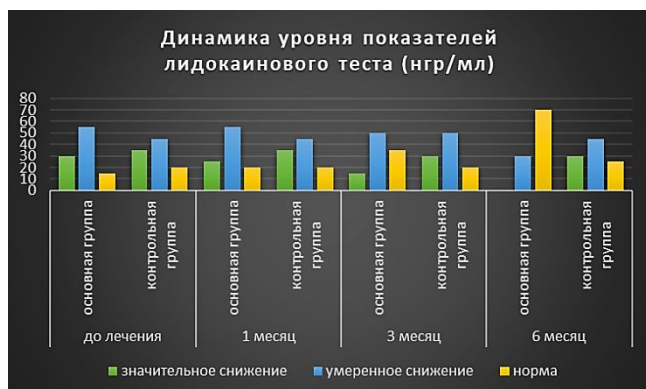


Рис. 9. Динамика показателей лидокаинового теста (нгр/мл) в группе контроля и в основной группе

В основной группе отмечено значительное улучшение функции печени. Через 6 месяцев после лечения в основной группе нет пациентов со значительным снижением функции печени (до лечения 30 % основной группы составляли подобные пациенты); умеренное снижение функции отмечалось у 30 % пациентов (до лечения – 55 %); нормальная функция у 70 % (до лечения – 15 %). В контрольной группе количество пациентов со значительным снижением функции снизилось на 5 % (с 35 до 30 %); количество пациентов с умеренным снижением функции осталось без изменений – 45 %; количество пациентов с нормальной функцией увеличилось на 5 % (с 20 до 25 %). Достоверные различия между основной и контрольной группами подтверждены статистически ($p = 0,0005$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенного исследования можно сказать, что введение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток непосредственно в сосудистое русло печени с целью улучшения функции печени оказывает более значимое влияние по сравнению с использованием L-орнитин-L-аспартата, что проявляется в следующем:

1. Нормализация уровня тромбоцитов, начиная с третьего месяца после использования клеточных технологий.
2. Нормализация уровня печеночных ферментов, начиная с 1-го месяца после использования клеточных технологий. А также длительное

и стойкое удержание положительного эффекта в отличие от контрольной группы.

3. Фиксация стабильного улучшения функционального состояния печени через 6 мес. после лечения, подтвержденного MEGX. Нормализация функции печени у 70 % пациентов основной группы и у 25 % контрольной.

4. Регрессия проявлений, соответствующих энцефалопатии, у 65 % пациентов основной группы и 10 % пациентов контрольной.

5. Субъективное улучшение самочувствия, которое более выражено в основной группе. Так, через 6 мес. после лечения в основной группе отсутствовали пациенты, которые оценивали свое состояние на низком и сниженном уровне субъективного комфорта. Тогда как в контрольной группе 45 и 35 % пациентов оценивали свое состояние на низком и сниженном уровне субъективного комфорта соответственно. И в контрольной группе отсутствовали пациенты, которые оценивали бы свое состояние на высоком уровне субъективного комфорта, тогда как в основной группе таких пациентов было 40 %.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Буеверов А.О., Павлов А.И., Ивашкин В.Т. / Bueverov A.O., Pavlov A.I., Ivashkin V.T. Алкогольная болезнь печени: возможно ли улучшение прогноза? / *Alkohol'naja bolezn' pecheni: vozmozhno li uluchshenie prognoza?* [Alcoholic liver disease: is an improvement in prognosis possible?] // Клинические перспективы гастроэнтерологии и гепатологии / *Klinicheskie perspektivy gastrojenterologii i gepatologii* [Clinical prospects of gastroenterology and hepatology]. – 2011. – № 2. – С. 3–10.
2. Майер К.П. / Mayer K.P. Гепатит и последствия гепатита: практ. руководство: пер. с нем / *Gepatit i posledstviya gepatita: prakt. rukovodstvo: per. s nem* [Hepatitis and the effects of hepatitis: pract. manual]. – 2-е изд., перераб и доп. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 720 с.
3. Abittan C., Lieber C. Alcoholic liver disease // *Clin. Perspect. in Gastroenterol.* – 1999. – Sept. Oct. – P. 257–63.
4. Clarification of the nomenclature for MSC: the International Society for Cellular Therapy position statement / E.M. Horwitz, K.Le Blanc, M. Dominici, et al. // *Cytotherapy.* – 2005. – Vol. 7, № 5. – P. 393–5.
5. Estebahn J.L. Diagnostic tests in HCV infection / J.L. Estebahn // *HCV infection: Epidemiology, Diagnosis and Treatment: supplemental.* – Dallas, 1995. – P. 12.
6. O'Shea R.S., Dasarathy S., McCullough A.J. Alcoholic liver disease // *Hepatology.* – 2010. – № 51. – P. 307–328.
7. Stem cell therapy of the liver-fusion or fiction? / M.H. Dahlke, F.C. Popp, S. Larsen, et al. // *Liver Transpl.* – 2004. – Vol. 10, № 4. – P. 471–9.

Контактная информация

Коткас Инна Евгеньевна – к. м. н., доцент кафедры факультетской хирургии им. И.И. Грекова, заведующая хирургическим отделением клиники им. Э.Э. Эйхвальда СЗГМУ им. И.И. Мечникова, e-mail: inna.kotkas@yandex.ru