

## Оценка возможности фиксации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в ткани печени, введенных в воротную вену у пациента, страдающего циррозом

© И. Е. КОТКАС, Ш. М. АСАДУЛАЕВ, Н. И. ЕНУКАШВИЛИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

*На сегодняшний день существует достаточно большое количество сообщений об использовании стволовых клеток при лечении различных заболеваний у людей. Однако авторы не предъявляют достоверных доказательств о том, что введенные стволовые клетки поступают непосредственно в орган-мишень. Не имея четкого представления о месте нахождения введенных стволовых клеток, сложно достоверно оценить эффект от их использования. В статье приводится собственное наблюдение о возможности визуализации в организме человека аутологичных мезенхимальных стволовых клеток, введенных через воротную вену пациенту, страдающему циррозом. В качестве меток использовались наночастицы оксида железа. Предварительно был решен достаточно не простой вопрос: как создать метку такого размера, чтобы была сохранена жизнеспособность стволовой клетки и при этом ее можно было визуализировать в организме человека при выполнении магнитно-резонансной томографии органов брюшной полости. После проведения исследований in vitro, был выбран наиболее подходящий вариант осуществления маркирования стволовых клеток, обеспечивающий, адекватную визуализацию и жизнеспособность клеток. После введения маркированных стволовых клеток пациенту выполнялась магнитно-резонансная томография органов брюшной полости. Введенные стволовые клетки были визуализированы только в печеночной ткани. По данным клинического и биохимического анализов крови каких-либо отклонений не было выявлено. Каких-либо осложнений, на фоне проведения данной процедуры, отмечено не было. Пациент в удовлетворительном состоянии был выписан на амбулаторное лечение.*

**Ключевые слова:** +

## Evaluation of the Possibility of Fixation of Autologous Mesenchymal Stem Cells in Liver Tissue Introduced into the Portal Vein of the Liver in a Patient Suffering from Cirrhosis

© I. E. KOTKAS, SH.M. ASADULAYEV, N. I. ENUKASHVILI

Public budgetary educational institution of higher education "North-western State Medical University named I. I. Mechnikov" of the Ministry of Healthcare of the Russia, Russian Federation

*To date, there are quite a large number of reports of the use of stem cells in the treatment of various diseases in humans. However, the authors do not provide credible evidence that the introduced stem cells come directly into the target organ. Without a clear understanding of the location of the introduced stem cells, it is difficult to reliably assess the effect of their use. The article gives its own observation about the possibility of imaging in the human body autologous mesenchymal stem cells introduced through the portal vein of the liver to a patient suffering from cirrhosis. Iron oxide nanoparticles were used as labels. A rather simple question was previously solved: how to create a label of such size that the viability of the stem cell was preserved and it could be visualized in the human body when performing magnetic resonance imaging of abdominal organs. Following in vitro studies, the most appropriate stem cell marking embodiment was chosen to provide both adequate imaging and cell viability. After administration of marked table cells, magnetic resonance imaging of abdominal organs was performed to the patient. The introduced stem cells were visualised only in hepatic tissue. According to clinical and biochemical blood tests - no deviations were detected. There were no complications against the background of this procedure. The patient was discharged for outpatient treatment in satisfactory condition.*

**Keywords:** liver cirrhosis; cell therapy; autologous mesenchymal stem cells; imaging cells in the human body; tracking stem cells in the human body; case report

Использование стволовых клеток при лечении различных заболеваний становится все более распространенным направлением в медицине [1]. На сегодняшний день, наиболее часто клеточная терапия применяется при сердечно-сосудистых заболеваниях [2], заболеваниях эндокринной [3] и нервной систем [4]. Также достаточно активно стволовые клетки используются при заболеваниях иммунной системы [5] и опорно-двигательного аппарата [6]. Однако, в последние

годы появляется все больше информации об увеличении числа пациентов, страдающих циррозом печени различной этиологии. Кроме того, все чаще подобный диагноз ставится людям молодого возраста. Проводится большое количество исследований по выполнению трансплантации стволовых клеток с целью стимуляции регенерации печеночной ткани. С целью получения мезенхимальных стволовых клеток предлагают разные способы забора жировой ткани - вакуумную

аспирацию и липоэктомии [7]. Имеются данные о том, что введенные стволовые клетки могут как сливаться с имеющимися гепатоцитами, так и проходить различные этапы дифференцировки до гепатоцитов [8,9]. Данные по вариантам дифференцировки введенных стволовых клеток очень разнообразны. Так, исследователи КНР в условиях экспериментального цирроза печени зафиксировали дифференцировку клеток костного мозга не в миофибробласты, а в гепатоциты [10]. Помимо этого, есть клиническая работа, которая показывает, что в развитие аутоиммунного гепатита с последующей трансформацией в первичный билиарный цирроз, есть непосредственное участие гемопоэтических клеток [11]. По результатам некоторых исследований подтверждено возникновение миофибробластов из трансплантированных клеток костного мозга [12]. Помимо всего вышесказанного, еще остается достаточно много вопросов:

- какой путь введения использовать при трансплантации клеточных структур с целью стимуляции регенерации печеночной ткани?
- происходит ли фиксация введенных клеточных структур в ткани печени?
- все ли введенные клеточные структуры остаются в ткани печени или они мигрируют в другие органы?

#### *Клиническое наблюдение*

Приведенное ниже клиническое наблюдение демонстрирует отслеживание распределения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток, введенных в воротную вену печени.

Пациент X., 58 лет, госпитализирован со следующим диагнозом:

Диагноз основной: Цирроз печени алкогольной этиологии, класс А (по Чайлд-Пью)

Диагноз сопутствующий: ИБС. Атеросклероз коронарных артерий. Стенокардия напряжения 3 ф.к., ГБ 2 стадии. АГ 3 степени. Риск ССО 4. Сахарный диабет 2 типа. Ожирение 1 ст (ИМТ 32)

Осложнения: Портальная гипертензия. Тромбоцитопения. Варикозное расширение вен пищевода 1 степени. Спленомегалия. Гиперспленизм.

На момент госпитализации основные жалобы пациента были на слабость и быструю утомляемость. По данным клинического анализа крови отмечалась тромбоцитопения. Уровень тромбоцитов составлял  $10^9 \times 10^9/\text{л}$ . Других изменений в клиническом анализе крови не было выявлено. В биохимическом анализе крови выявлены отклонения уровня печеночных ферментов: АЛТ - 68,3 (Е/л); АСТ - 53,5 (Е/л); щелочная фосфатаза - 234,6 (Е/л); ГГТП - 107,9 (Е/л). По заключению эластографии печени – F3-F4. С целью оценки функционального состояния печени, перед выполнением процедуры введения стволовых клеток пациенту выполнен MEGX тест, по результатам которого отмечалось значительное снижение функции печени. Также, для субъективной оценки состояния самочув-

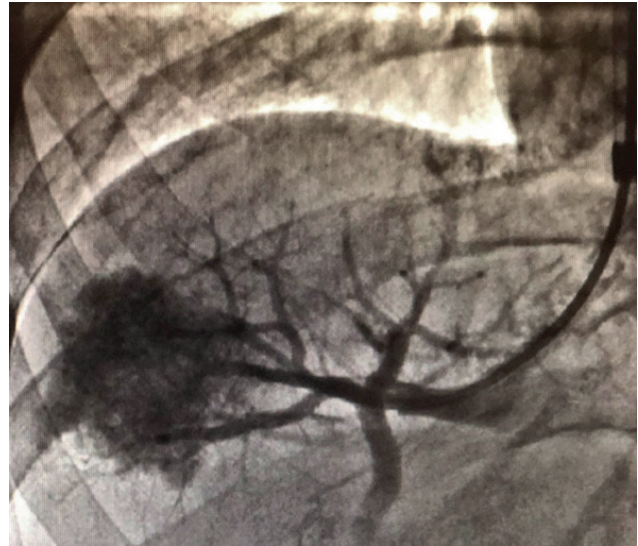


Рис. 1. Портография пациента X.  
Fig. 1. Portography of patient X.

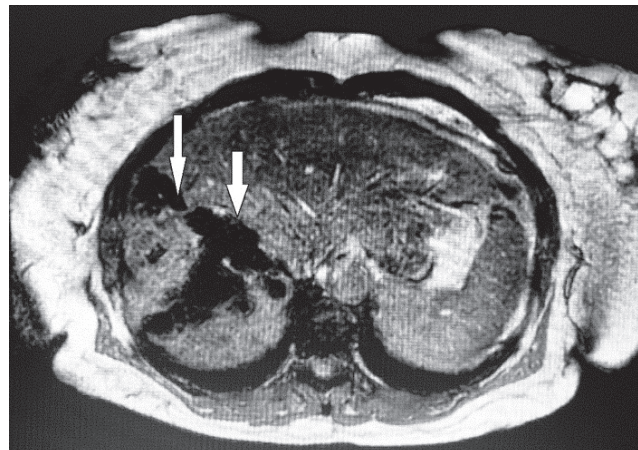


Рис. 2. Магнитно-резонансная томография органов брюшной полости пациента X. Стрелками указано скопление введенных в воротную вену аутологичных мезенхимальных стволовых клеток, отмеченных наночастицами оксида железа.

Fig. 2. Magnetic resonance imaging of the abdominal organs of patient X. The arrows indicate the accumulation of autologous mesenchymal stem cells inserted into the portal vein, marked with iron oxide nanoparticles.

ствия, пациенту проводили тестирование (шкала оценки субъективной комфортности А.Б. Леонова). На основании результатов, полученных при тестировании самочувствие пациента расценено следующим образом: низкий уровень субъективного комфорта, плохое самочувствие.

#### **Результаты**

С целью выделения мезенхимальных стволовых клеток, пациенту был выполнен забор жировой ткани с внутренней поверхности бедра. Выделенные клеточные структуры были культивированы. Все полученные клетки были отмечены наночастицами оксида железа. Пациенту была выполнена трансъюгулярная портография с последующим введением в воротную вену аутологичных мезенхимальных клеток в количе-

стве 20 миллионов. На этом процедура была завершена. После выполнения процедуры состояние пациента расценивалось как удовлетворительное. На рисунке 1 представлена портография пациента X.

На следующие сутки после введения клеточных структур в систему воротной вены, пациенту была выполнена МРТ органов брюшной полости (рис. 2).

Введенные клеточные структуры, отмеченные наночастицами оксида железа, были выявлены только в печеночной ткани. После проведенной процедуры пациент находился под наблюдением в стационаре в течение 7 дней. За время госпитализации развития каких-либо осложнений не отмечалось. По данным контрольных клинических и биохимических анализов крови ухудшения показателей выявлено не было. Пациент в удовлетворительном состоянии был выписан на амбулаторное лечение. Повторная госпитализация для оценки состояния функции печени запланирована через месяц после проведения клеточной терапии.

### Обсуждение

Возможность визуализировать вводимые стволовые клетки в организме человека является достаточно значимым фактором в развитие клеточной терапии. Основная часть исследований, которая позволяет подтвердить наличие введенных стволовых клеток в определенном органе носит экспериментальный характер. Кроме того, даже в условиях эксперимента, визуализация введенных стволовых клеток при жизни экспериментального животного является крайне сложной задачей. Для визуализации клеток *in vivo* на доклиническом этапе существуют эндогенные и экзогенные маркеры. При этом, большая часть красителей, которые используются в качестве маркеров, имеют высо-

кую токсичность, склонность к переносу в немеченые клетки и, зачастую, способствуют ингибированию пролиферации клеток. Предложенный нами способ визуализации стволовых клеток в организме человека дает возможность не только отследить распределение вводимых клеточных структур, но и открывает возможность к дальнейшему исследованию трансформационных изменений со стороны используемых стволовых клеток. Каких-либо побочных эффектов при проведении данной процедуры выявлено не было.

### Выводы

1. Все, введенные в воротную вену, аутологичные мезенхимальные клетки фиксируются в ткани печени.
2. При введении в воротную вену мезенхимальных аутологичных стволовых клеток не отмечалось миграции клеточных структур в другие органы.

### Дополнительная информация

#### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### Источник финансирования.

Исследования проведены при поддержке ООО «Гера». Спонсоры программы и третьи лица не принимали участие в обработке и анализе данных и написании настоящей статьи.

#### Участие авторов

Коткас И.Е.: Идея исследования, концепция и дизайн исследования, написание текста, обработка материала. Научное редактирование. Техническое редактирование, оформление библиографии, подготовка иллюстраций. Сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.

Асадулаев Ш.М.: выполнение введения стволовых клеток в воротную вену печени.

Енукашвили Н.И.: выделение стволовых клеток, калибровка меток из наночастиц, маркирование наночастиц метками.

### Список литературы

1. Соловьева А. О., Зубарева К. Э., Повешченко А. Ф., Нечаева Е. А., Коненков В. И. Способы меченя клеток для визуализации *in vivo* // Гены и клетки. 2013. №4.
2. Takehara N. Cell therapy for cardiovascular regeneration. *Ann. Vasc. Dis.* 2013; 6(2): 137–44.
3. Drela K., Siedlecka P., Sarnowska A. et al. Human mesenchymal stem cells in the treatment of neurological diseases. *Acta. Neurobiol. Exp. (Wars)*. 2013; 73(1): 38–56.
4. Domínguez-Bendala J., Lanzoni G., Inverardi L. et al. Concise review: mesenchymal stem cells for diabetes. *Stem Cells Transl. Med.* 2012; 1(1): 59–63.
5. Michael M., Shimoni A., Nagler A. Recent compounds for immunosuppression and experimental therapies for acute graft-versus-host disease. *Isr. Med. Assoc. J.* 2013; 15(1): 44–50.
6. Steinert A.F., Rackwitz L., Gilbert F. et al. Concise review: the clinical application of mesenchymal stem cells for musculoskeletal regeneration: current status and perspectives. *Stem Cells Transl. Med.* 2012; 1(3): 237–47.
7. Романенков Н.С., Мовчан К.Н. Возможности применения мезенхимальных стволовых клеток из аутологичной жировой ткани в пластической и реконструктивной хирургии (обзор литературы). *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова.* 2016; 8(2):125–134.
8. Zhan Y, Wei L, Chen H, Cong X, Fei R, Wang Y. [Differentiation of bone marrow stem cells in rat hepatic fibrogenesis environment]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2003 Nov;11(11):673–675.
9. Урываева И.В. Стволовые клетки в регенерации печени. *Биология стволовых клеток и клеточные технологии.* М.: Медицина, 2009;2:456.

### References

1. Solov'eva A. O., Zubareva K. E., Poveshchenko A. F., Nechaeva E. A., Konenkov V. I. Sposoby mecheniya kletok dlya vizualizatsii *in vivo* // *Geny i kletki.* 2013. №4.
2. Takehara N. Cell therapy for cardiovascular regeneration. *Ann. Vasc. Dis.* 2013; 6(2): 137–44.
3. Drela K., Siedlecka P., Sarnowska A. et al. Human mesenchymal stem cells in the treatment of neurological diseases. *Acta. Neurobiol. Exp. (Wars)*. 2013; 73(1): 38–56.
4. Domínguez-Bendala J., Lanzoni G., Inverardi L. et al. Concise review: mesenchymal stem cells for diabetes. *Stem Cells Transl. Med.* 2012; 1(1): 59–63.
5. Michael M., Shimoni A., Nagler A. Recent compounds for immunosuppression and experimental therapies for acute graft-versus-host disease. *Isr. Med. Assoc. J.* 2013; 15(1): 44–50.
6. Steinert A.F., Rackwitz L., Gilbert F. et al. Concise review: the clinical application of mesenchymal stem cells for musculoskeletal regeneration: current status and perspectives. *Stem Cells Transl. Med.* 2012; 1(3): 237–47.
7. Romanenkov N.S., Movchan K.N. Vozmozhnosti primeneniya mezenhimal'nykh stvolovykh kletok iz avtologichnoj zhirovoj tkani v plasticheskoy i rekonstruktivnoj hirurgii (obzor literatury). *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta im. I.I. Mechnikova.* 2016; 8(2):125–134.
8. Zhan Y, Wei L, Chen H, Cong X, Fei R, Wang Y. [Differentiation of bone marrow stem cells in rat hepatic fibrogenesis environment]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2003 Nov;11(11):673–675.
9. Uryvaeva I.V. Stvolovye kletki v regeneratsii pecheni. *Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii.* M.: Medicina, 2009;2:456.
10. Kyriakou, D.S. Hemopoietic progenitor cells and bone marrow stromal cells in patients with autoimmune hepatitis type 1 and primary biliary

10. Kyriakou, D.S. Hemopoietic progenitor cells and bone marrow stromal cells in patients with autoimmune hepatitis type 1 and primary biliary cirrhosis. D. S. Kyriakou et al. Journal of Hepatology. 2003;39(5):679–685. DOI: 10.1016/s0168-8278(03)00387-8
11. Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Rugge M, Wright NA, et al. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. Gastroenterology. 2004 Apr;126(4):955–963. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.02.025
12. Conigliaro A, Brenner DA, Kisseleva T. Hepatic progenitors for liver disease: current position. Stem Cells Cloning. 2010 Feb 25; 3: 39.

- cirrhosis. D. S. Kyriakou et al. Journal of Hepatology. 2003;39(5):679–685. DOI: 10.1016/s0168-8278(03)00387-8
11. Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Rugge M, Wright NA, et al. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. Gastroenterology. 2004 Apr;126(4):955–963. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.02.025
12. Conigliaro A, Brenner DA, Kisseleva T. Hepatic progenitors for liver disease: current position. Stem Cells Cloning. 2010 Feb 25; 3: 39.

### Информация об авторах

1. Коткас Инна Евгеньевна - к.м.н., доцент кафедры факультетской хирургии им. И.И. Грекова СЗГМУ им. И.И. Мечникова, e-mail: inna.kotkas@yandex.ru
2. Асадулаев Шамиль Магомедович - к.м.н., врач-хирург рентгено-эндоваскулярного кабинета ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ, e-mail: Shamil.asadulaev@szgmu.ru
3. Енукашвили Нателла Иосифовна - к.б.н., старший научный сотрудник, научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ, e-mail: Natella.enukashvili@szgmu.ru

### Information about the Authors

Inna Evgenievna Kotkas - Ph.D., Associate Professor of the Department of Faculty Surgery named after I. I. Grekov, I. I. Mechnikov NWSMU, e-mail: inna.kotkas@yandex.ru

Shamil Magomedovich Asadulaev - Ph.D., surgeon of the X-ray endovascular office of the I. I. Mechnikov NWSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: Shamil.asadulaev@szgmu.ru

Natella Iosifovna Enukashvili - Ph.D., Senior Researcher, Research Laboratory of Cell Technologies, I. I. Mechnikov NWSMU, Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: Natella.enukashvili@szgmu.ru

### Цитировать:

*Коткас И.Е., Асадулаев Ш.М., Енукашвили Н.И. Оценка возможности фиксации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в ткани печени, введенных в воротную вену у пациента, страдающего циррозом. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2021; 14: 2: 136-139. DOI: 10.18499/2070-478X-2021-14-2-136-139.*

### To cite this article:

*Kotkas I.E., Asadulayev Sh.M., Enukashvili N.I. Evaluation of the Possibility of Fixation of Autologous Mesenchymal Stem Cells in Liver Tissue Introduced into the Portal Vein of the Liver in a Patient Suffering from Cirrhosis. Journal of experimental and clinical surgery 2021; 14: 2: 136-139. DOI: 10.18499/2070-478X-2021-14-2-136-139.*