



ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СИСТЕМНОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНОЧНОГО

ТРАНСПЛАНТАТА В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

¹С. В. Коротков, ¹Н. И. Дедюля, ¹И. А. Романова, ²О. А. Лебедь, ¹Е. Ю. Крученко,
¹А. М. Федорук, ¹А. Е. Щерба, ¹С. И. Кривенко, ¹О. О. Руммо

¹Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии,
Минск, Беларусь

²Городское клиническое патологоанатомическое бюро, Минск, Беларусь

Введение. Трансплантация печени является единственным радикальным методом лечения терминальных стадий печеночной недостаточности при циррозе. Однако, несмотря на совершенствование хирургических методик и протоколов иммуносупрессии с использованием ингибиторов кальцинейрина, частота иммунологических осложнений достигает 40 %, что существенно влияет на восстановление функции трансплантата в раннем послеоперационном периоде.

Цель исследования. Изучение влияния системного применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на восстановление функции трансплантата печени в раннем послеоперационном периоде.

Материал и методы. Проведено рандомизированное проспективное исследование 30 пациентов после трансплантации печени. Основная группа (n=15) получала системную терапию МСК, контрольная группа (n=15) – стандартную иммуносупрессивную терапию. МСК вводились внутривенно двукратно: интраоперационно и на 4 сутки после операции в дозе 2×10⁶ клеток/кг. Оценивались биохимические показатели функции печени, маркеры воспаления, результаты морфологического и иммуногистохимического исследования трансплантата, концентрация такролимуса, частота развития осложнений.

Результаты. В группе МСК было отмечено более быстрое восстановление функции трансплантата: к 10 суткам уровень АЛТ составил 78 против 98 Ед/л, билирубина – 34 против 53 мкмоль/л (p<0,05). Частота острого клеточного отторжения была ниже в группе МСК (20 % против 33 %). Экспрессия матричной металлопротеиназы-10 (ММП-10) в трансплантате также была ниже в основной группе исследования (15 % против 20 %, p=0,046). Применение МСК позволило поддерживать более низкие концентрации такролимуса (3,1 против 4,7 нг/мл на 7 сутки, p<0,05) без увеличения частоты отторжения. Уровни воспалительных маркеров были ниже при использовании МСК: СРБ (34 против 55,5 мг/л) и прокальцитонин (0,9 против 3,79 нг/мл) на 7 сутки (p<0,05). Осложнений, связанных с введением МСК, не наблюдалось.

Заключение. Системное применение МСК является безопасным и эффективным методом иммуносупрессивной терапии после трансплантации печени, который ускоряет восстановление функции пересаженной печени после трансплантации, уменьшает риски развития острого отторжения и позволяет минимизировать дозы ингибиторов кальцинейрина.

Ключевые слова: трансплантация печени, мезенхимальные стволовые клетки, иммуносупрессия, острое отторжение, такролимус

EVALUATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS SYSTEMIC APPLICATION EFFECT ON LIVER TRANSPLANT FUNCTION

RECOVERY IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD

¹S. V. Korotkov, ¹N. I. Dedyulya, ¹I. A. Romanova, ²O. A. Lebed, ¹E. Yu. Kruchonok,
¹A. M. Fedoruk, ¹A. E. Shcherba, ¹S. I. Krivenko, ¹O. O. Rummo

¹Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology,
Minsk, Belarus

²City Clinical Pathoanatomical Bureau, Minsk, Belarus

Background. Liver transplantation is the only radical method of treating of terminal stages of liver failure in cirrhosis. However, despite the progress of surgical techniques and immunosuppression protocols with calcineurin inhibitors application, the incidence of immunological complications is above 40%, which significantly affects the rerecovery of transplant function in the early postoperative period.

Objective – to evaluate the effect of systemic of mesenchymal stem cells (MSCs) application on the liver transplant function recovery in the early postoperative period.

Material and methods. Randomized prospective study in 30 patients after liver transplantation was performed. The main group (n=15) received systemic MSC therapy, the control group (n=15) – standard immunosuppressive therapy. MSCs were infused intravenously twice: intraoperatively and on the 4th day after surgery at a dose of 2×10⁶ cells per

kg. Biochemical parameters of liver function, inflammation markers, results of morphological and immunohistochemical examination of the graft, Tacrolimus concentration, and incidence of complications were assessed.

Results. In the MSC group, graft function recovered faster: on the 10th day, the ALT level was 78 versus 98 U/L, bilirubin - 34 versus 53 $\mu\text{mol/L}$ ($p < 0.05$). The frequency of acute cellular rejection was lower in the MSC group (20% versus 33%). Matrix Metalloproteinase-10 (MMP-10) expression in the graft was also lower in the main group (15% versus 20%, $p = 0.046$). MSCs application allowed to maintaining lower concentrations of Tacrolimus (3.1 versus 4.7 ng/ml on the 7th day, $p < 0.05$) without increasing the frequency of rejection. Levels of inflammatory markers were lower in MSCs application: CRP (34 versus 55.5 mg/L) and procalcitonin (0.9 versus 3.79 ng/ml) on the 7th day ($p < 0.05$). There were no complications associated with the administration of MSCs.

Conclusion. Systemic application of MSCs is safe and effective method of immunosuppressive therapy after liver transplantation, which accelerates the recovery of liver transplant function after operation, reduces the risk of acute rejection and allows to minimize the doses of calcineurin inhibitors.

Keywords: liver transplantation, mesenchymal stem cells, immunosuppression, acute rejection, Tacrolimus.

Автор, ответственный за переписку: Коротков Сергей Владимирович, канд. мед. наук, доц., ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: skorotkov@tut.by

Corresponding author: Korotkov Sergey V. (corresponding author), PhD (Medicine), Associate Professor, «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology», e-mail: skorotkov@tut.by

Для цитирования: Оценка влияния системного применения мезенхимальных стволовых клеток на восстановление функции печёночного трансплантата в раннем послеоперационном периоде / С. В. Коротков, Н. И. Дедюля, И. А. Романова, О. А. Лебедь, Е. Ю. Крученко, А. М. Федорук, А. Е. Щербя, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Гепатология и гастроэнтерология. 2025. Т. 9, № 1. С. 29-37. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2025-9-1-29-37>

For citation: Korotkov SV, Dedyulya NI, Romanova IA, Lebed OA, Kruchonok EYu, Fedoruk AM, Shcherba AE, Krivenko SI, Rummo OO. Evaluation of mesenchymal stem cells systemic application effect on liver transplant function recovery in the early postoperative period. Hepatology and Gastroenterology. 2025;9(1):29-37. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2025-9-1-29-37>

Введение

Трансплантация печени (ТП) остается единственным радикальным методом лечения терминальных стадий печеночной недостаточности, вызванных циррозом [1].

Несмотря на совершенствование хирургических технологий и оптимизацию иммуносупрессивных протоколов на основе ингибиторов кальцинейрина (такролимус, циклоспорин), частота иммунологических осложнений остается достаточно высокой и достигает 40 %, оказывая негативное влияние на функцию трансплантата и выживаемость пациентов [2, 3, 4].

Неблагоприятными факторами, ухудшающими результаты лечения пациентов после ТП, являются побочные эффекты иммуносупрессивной терапии (ИСТ) – нефротоксичность, инфекционные осложнения и метаболические нарушения [5].

В настоящее время актуальным направлением в трансплантологии является разработка альтернативных методов ИСТ, позволяющих улучшить результаты лечения данной категории пациентов за счет индукции иммунологической толерантности. Таким вариантом иммуносупрессии является терапия мезенхимальными стволовыми клетками (МСК) [5]. МСК при системном введении модулируют иммунный ответ как через подавление активации и ингибирования дифференцировки агрессоров клеточного и гуморального звена иммунного ответа, так и стимуляцию супрессорных механизмов посттрансплантационного иммунитета [6–9].

Внедрение клеточных технологий в протоколы ИСТ ТП позволит уменьшить риски развития отторжения, оптимизировать режимы иммуносупрессии, снизить ее побочные эффекты, и, соответственно, улучшить результаты лечения пациентов в раннем и отдалённом послеоперационных периодах [10].

Цель исследования – изучение влияния системного применения МСК на восстановление функции ТП в раннем послеоперационном периоде.

Материал и методы

Дизайн исследования. Для изучения системного действия МСК было проведено интервенционное рандомизированное проспективное сравнительное в двух группах исследование ($n=30$). Основную группу составили 15 пациентов, получавших системную терапию МСК. Группу сравнения составили 15 пациентов, которым проводилась стандартная ИСТ согласно клиническому протоколу «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» [11].

Критериями включения пациентов в исследование были верифицированный диагноз цирроза печени (ЦП) с активным статусом в листе ожидания ТП; совершеннолетние пациенты (≥ 18 лет); аллотрансплантация печени от посмертного донора с применением стандартной хирургической техники, включающей резекцию ретропеченочного сегмента нижней полой вены. Критерии исключения: несовершеннолетний возраст (< 18 лет); сплит-трансплантация и транспланта-

ция от живого родственного донора; атипичные варианты портальной реконструкции (рено-портальный, кава-портальный, шунто-портальный анастомоз), повторная ТП. Критерии исключения: первичное отсутствие функции трансплантата либо тяжелая дисфункция трансплантата, требующие проведения ретрансплантации.

Для определения эффективности и безопасности метода определены следующие первичные и вторичные конечные точки:

1) первичные: частота развития осложнений, связанных с внутривенным применением МСК; частота возникновения в раннем послеоперационном периоде гистологически подтвержденного отторжения трансплантата; динамика восстановления функции печени;

2) вторичные: концентрация такролимуса в крови, выраженность воспалительного синдрома, частота развития послеоперационных осложнений, длительность пребывания пациента в реанимации и стационаре.

Характеристика клеточного продукта. В соответствии с задачами исследования использовался биомедицинский клеточный продукт (БМКП) «Клетки мезенхимальные человека ТУ ВУ 100660677.001» (регистрационное удостоверение № ИМ-7.101480, регистрационный номер: Мн-7.117650-1402 от 29.05.2014 г.). БМКП представляет собой аллогенные МСК, полученные из жировой ткани доноров со смертью мозга. Характеристики БМКП соответствовали «минимальным критериям мезенхимальных стволовых клеток» (ISCT, 2006) [12].

Методика системного введения МСК. Введение МСК выполнялось внутривенно в два этапа:

1. Первое введение МСК выполнялось интраоперационно в центральную вену на этапе индукции ИСТ в количестве 2×10^6 клеток на кг массы тела пациента.

2. Второе введение выполнялось на 4 сутки после операции внутривенно в центральную либо периферическую вены в количестве 2×10^6 клеток на кг.

Гистологическое и иммуногистохимическое исследование трансплантата. Пункционная биопсия и морфологическое исследование трансплантата выполнялись на 7 сутки послеоперационного периода, а также при развитии признаков дисфункции трансплантата. Гистологическая оценка наличия и степени отторжения проводилась в соответствии с критериями Банфской классификации. Количественная оценка выраженности острого клеточного отторжения основывалась на определении индекса активности отторжения (RAI). Верификация гуморального отторжения осуществлялась иммуногистохимическим методом с идентификацией C4d-компонента комплемента [13, 14, 15]. В качестве дополнительных маркеров интенсивности аллоиммунного ответа исследовалась тканевая экспрессия

матричной металлопротеиназы-10 (ММП-10) и каспазы-3 методом иммуногистохимического анализа [16, 17].

Статистический анализ полученных данных осуществлялся с применением программного обеспечения Statistica 8.0. Оценка характера распределения количественных показателей производилась посредством W-теста Шапиро-Уилка. При выявлении отклонений от нормального распределения данные представлялись в формате медианы (Me) и интерквартильного интервала [Q25; Q75]. Межгрупповые различия по количественным параметрам оценивались с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни (MW). Для сравнительного анализа категориальных переменных применялся точный критерий Фишера с построением таблиц сопряженности (F) [18].

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ клинико-демографических характеристик не выявил статистически значимых различий между исследуемыми группами пациентов (табл. 1). Средний возраст пациентов в основной группе исследования составил 48 (35; 51) лет, в контрольной группе – 49 (39; 57) (MW, $p > 0,05$). В группе МСК мужчин было 9 (60 %), женщин – 6 (40 %), в контрольной группе – 7 (47%) и 8 (53 %) соответственно (F, $p > 0,05$).

В группе МСК показанием к ТП явились: ЦП в исходе вирусного гепатита В в комбинации с вирусным гепатитом D – 1 (6,7 %) пациент, ЦП HCV-этиологии – 5 (33 %), ЦП HCV-этиологии в комбинации с гепатоцеллюлярным раком – 2 (13,4%), криптогенный ЦП – 2 (13,4 %), первичный склерозирующий холангит в комбинации с холангиоцеллюлярным раком – 1 (6,7 %), ЦП в исходе болезни Вильсона-Коновалова – 2 (13,4 %), первичный билиарный холангит – 1 (6,7 %), ЦП в исходе аутоиммунного гепатита – 1 (6,7%). В контрольной группе: ЦП HBV-этиологии – 2 (13,4 %) пациента, ЦП HBV-этиологии в комбинации с HDV – 1 (6,7 %), ЦП HCV-этиологии – 3 (20,1 %), ЦП HCV-этиологии в комбинации с гепатоцеллюлярным раком – 1 (6,7 %), криптогенный ЦП – 5 (33 %), ЦП в исходе ПСХ – 1 (6,7 %), первичный билиарный холангит – 2 (13,4 %) (F, $p > 0,05$).

В обеих исследуемых группах индукционная ИСТ проводилась с применением глюкокортикостероидов (ГКС). Учитывая исходные значения индекса MELD > 20 баллов у всех реципиентов, использование блокаторов рецептора интерлейкина-2 (IL2RA) для индукции согласно протокол клиническому протоколу не требовалось [11].

Поддерживающая ИСТ базировалась на трехкомпонентной схеме, включающей ингибитор кальцинейрина (такролимус), антиметаболит

Таблица 1 – Характеристика групп исследования**Table 1** – Characteristics of Patient Groups

Показатель	Группа МСК	Контрольная группа	MW, p
Реципиенты			
MELD, баллы	23 (21; 27)	24 (22; 28)	
Na, ммоль/л	131 (127; 133)	134 (129; 137)	
Билирубин, мкмоль/л	124 (111; 193)	125 (46; 459)	
МНО	1,9 (1,48; 2,03)	1,6 (1,28; 1,94)	p>0,05
Мочевина, ммоль/л	7 (4; 10,9)	7,1 (4,5; 9,6)	
Креатинин, мкмоль/л	63 (59; 91)	64 (56; 95)	
СКФ, мл/мин	41 (24; 61)	35 (28; 53)	
Донорские факторы			
Возраст донора, лет	46 (32; 49)	46 (36; 55)	p>0,05
Сутки в ОАР	5 (4; 5)	4 (3; 6)	
Hb, г/л	107 (93; 141)	113 (102; 131)	
АСТ, Ед/л	59 (32; 89)	44 (34; 68)	
АЛТ, Ед/л	43 (27; 69)	40 (23; 54)	
Na, ммоль/л	147 (141; 157)	153 (149; 155)	
МНО	1,13 (0,97; 1,31)	1,22 (1,11; 1,32)	
Операция			
Кровопотеря, мл	1800 (700; 3000)	1400 (800; 2500)	p>0,05
Общая ишемия, мин	540 (495; 610)	550 (480; 600)	
Тепловая ишемия, мин	40 (35; 45)	42 (4037; 45)	
Агепатический период. мин	50 (42; 55)	54 (45; 60)	

(микофенолат мофетил) и ГКС (метилпреднизолон). Назначение терапии такролимусом осуществлялась с первых суток послеоперационного периода в дозе 0,1 мг/кг/сутки. При развитии острого почечного повреждения начало терапии ингибиторами кальцинейрина откладывалось до стабилизации почечной функции. При верификации острого клеточного отторжения проводилась пульс-терапия метилпреднизолоном. При остром гуморальном отторжении терапия включала плазмаферез и введение внутривенного иммуноглобулина. В случаях иммунологиче-

ской дисфункции трансплантата осуществлялась модификация иммуносупрессивного протокола путем добавления ингибитора mTOR (эверолимус) и эскалации дозы микофенолата мофетила до 2000 мг/сутки. [11].

Результаты исследования продемонстрировали безопасность применения МСК: местных осложнений (тромбоз, флебит центральных и периферических вен; кровотечение, инфицирование места катетеризации) и системных реакций (аллергические реакции, гипотензия, аритмии, гипертермия, тромбоэмболия), связанных с внутривенным введением МСК, выявлено не было.

Анализ уровня цитолитических ферментов АСТ и АЛТ показал, что в первые сутки после операции (СПО) у пациентов наблюдались признаки дисфункции аллографта, обусловленные консервационным и ишемически-реперфузионным повреждением (табл. 2).

В последующие сутки отмечалась положительная динамика. При использовании МСК восстановление показателей происходило в более ранние сроки. На 7 и 10 сутки после операции уровень АСТ, АЛТ был достоверно ниже в группе исследования. Уровень АСТ на 7 СПО составил в группе МСК 59 (27; 116) Ед/л, в группе контроля – 81 (40; 170) Ед/л, на 10 СПО – 32 (18; 44) и 41 (25; 86) Ед/л, соответственно (MW, p<0,05). Уровень АЛТ на 7 СПО составил в группе МСК 155 (66; 150) Ед/л, в группе контроля – 199 (125; 334) Ед/л.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика уровня АСТ и АЛТ в послеоперационном периоде**Table 2** – Comparative characteristics of AST and ALT levels in the postoperative period

Сутки	Группа	Сутки				min	max	Δmax-min
		1	4	7	10			
АСТ, Ед/л	МСК_СТ	997 (418; 2282)	133,5 (68; 224)	59* (27; 116)	32* (18; 44)	26* (20; 44)	30* (20; 113)	0* (0; 69)
	контр	1132 (733; 2372)	147,5 (103; 248)	81 (40; 170)	41 (25; 86)	40 (25; 89)	64 (24; 265)	16 (0; 170)
АЛТ, Ед/л	МСК_СТ	579 (273; 1162)	257 (82; 391)	155* (66; 150)	78* (63; 136)	80* (56; 134)	91* (63; 168)	3* (0; 32)
	контр	699 (572; 1251)	256 (167; 450)	199 (125; 334)	98 (66; 167)	112 (39; 152)	129 (38; 314)	35,5 (0; 163)

Примечание – * – отличие достоверно по отношению к контрольной группе, p<0,05.

334) Ед/л, на 10 СПО – 78 (63; 136) и 98 (66; 167) Ед/л соответственно (MW, $p<0,05$).

Для оценки клинических проявлений дисфункции использовался показатель, зафиксированный в момент его пика – max, а также разница между этим значением и минимальным предыдущим показателем – min. При отсутствии отрицательной динамики значение max приравнялось к показателю min.

Показатели АСТ и АЛТ были достоверно выше в группе стандартной иммуносупрессивной терапии (табл. 2).

Анализ динамики дезинтоксикационной и синтетической функции печени продемонстрировал лучшие показатели восстановления в группе применения МСК (табл. 3).

Уровень билирубина на 7 СПО составил в группе МСК 43,5 (37; 112) мкмоль/л, в группе контроля – 98 (67; 164) мкмоль/л, на 10 СПО – 34 (32; 48) и 53 (39; 138) мкмоль/л, соответственно (MW, $p<0,05$). Несмотря на отсутствие статистической значимости, показатель МНО также демонстрировал более благоприятную динамику в группе МСК: на 7 СПО в группе МСК он составил 1,0 (0,97; 1,06), в контрольной группе –

1,15 (1,03; 1,27), на 10 СПО – 1,0 (0,93; 1,04) и 1,12 (0,98; 1,29) соответственно (MW, $p>0,05$).

При анализе показателей max, min и Δmax-min значения билирубина и МНО были ниже в группе с применением МСК, что свидетельствовало о более стабильном течении послеоперационного периода.

Динамика уровня щелочной фосфатазы (ЩФ) и гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП), являющихся маркерами холестаза и повреждения трансплантата (консервационного, иммунологического) показала (табл. 4), что уровень ЩФ на 7 СПО был достоверно ниже в группе МСК и составил 159 (145; 213) Ед/л против 192 (130; 296) Ед/л в контрольной группе. Максимальные значения ЩФ также были ниже в группе МСК – 209 (132; 360) Ед/л по сравнению с контрольной группой – 233,5 (160; 446) Ед/л.

Уровень ГГТП на 10 СПО в группе МСК составил 379 (217; 503) Ед/л, что было достоверно ниже показателей контрольной группы – 462 (224; 840) Ед/л (MW, $p<0,05$). Показатели max, min и Δmax-min для ГГТП были значимо ниже в группе МСК: max – 503 (217; 854) Ед/л против 570 (208; 990) Ед/л в контрольной группе,

Таблица 3 – Динамика уровня билирубина и МНО в послеоперационном периоде

Table 3 – Dynamics of bilirubin and INR levels in the postoperative period

Сутки	Группа	Сутки				min	max	Δmax-min
		1	4	7	10			
Билир., мкмоль/л	МСК_СТ	91 (54; 126)	67 (31; 35)	43,5* (37; 112)	34* (32; 48)	42* (16; 56)	64* (24; 132)	12* (0; 79)
	контр	113 (59; 180)	76 (46; 115)	98 (67; 164)	53 (39; 138)	63 (39; 98)	128 (45; 211)	27 (5; 125)
МНО	МСК_СТ	1,67 (1,5; 1,98)	1,09 (1; 1,15)	1 (0,97; 1,06)	1 (0,93; 1,04)	0,96 (0,9; 1)	1,09* (0,96; 1,72)	0,13 (0; 0,62)
	контр	1,37 (1,24; 1,55)	1,13 (1,02; 1,27)	1,15 (1,03; 1,27)	1,12 (0,98; 1,29)	1,02 (0,93; 1,09)	1,51 (1,26; 1,83)	0,33 (0,16; 0,78)

Примечание – * – отличие достоверно по отношению к контрольной группе, $p<0,05$.

Таблица 4 – Динамика уровня ЩФ и ГГТП в послеоперационном периоде

Table 4 – Dynamics of ALP and GGT levels in the postoperative period

Сутки	Группа	Сутки				min	max	Δmax-min
		1	4	7	10			
ЩФ, Ед/л	МСК_СТ	83 (53; 113)	128 (94; 170)	159* (145; 213)	202 (112; 240)	110,5 (77; 139)	209* (132; 360)	110 (5; 172)
	контр	79 (63; 118)	130,5 (93; 258)	192 (130; 296)	216,5 (118; 324)	118 (70; 202)	233,5 (160; 446)	76 (34; 224)
ГГТП, Ед/л	МСК_СТ	65 (27; 99)	424 (202; 656)	544 (354; 795)	379* (217; 503)	236* (195; 367)	503* (217; 854)	34* (0; 313)
	контр	96 (61; 209)	408 (193; 742)	546 (319; 812)	462 (224; 840)	314 (51; 576)	570 (208; 990)	219 (122; 553)

Примечание – * – отличие достоверно по отношению к контрольной группе, $p<0,05$.

Δmax-min – 34 (0; 313) Ед/л против 219 (122; 553) Ед/л в контрольной группе. Это также указывает на более благоприятное течение послеоперационного периода.

По результатам биопсий трансплантата, выполненных на 7 СПО, частота гистологически подтвержденного отторжения в группе пациентов, получивших МСК, составила 20 % (n=3), в контрольной группе – 33 % (n=5) (F, p>0,05) (рис. 1, табл. 5).

В группе МСК острое клеточное отторжение (ACR) легкой степени (балл RAI 5) было диагностировано у 1 пациента (6,5 %), умеренной степени (балл RAI 7) – также у 1 пациента (6,5 %), острое гуморальное отторжение (AMR) – у 1 пациента (6,5 %). Частота отторжения легкой степени (балл RAI 5) в контрольной группе составила 6,5 % (n=1), умеренной степени (балл RAI 7) – 6,5 % (n=1), тяжелой степени (балл RAI 9) – 6,5 % (n=1). Частота гуморального отторжения составила 13 % (n=2) (F, p>0,05) (табл. 5).

В группе МСК клиническое проявление иммунологической дисфункции трансплантата отмечено на 6 СПО у пациента с ACR RAI 7 и на 7 СПО – у пациентов с ACR RAI 5 (n=1) и AMR (n=1). В контрольной группе проявление дисфункции наблюдалось на 5, 6, 7 СПО.

Таблица 5 – Сравнительная характеристика гистологического исследования биоптатов трансплантата

Table 5 – Comparative histological characteristics of transplant biopsies

Результат исследования	Группа СТ МСК (n=15)	Контрольная группа (n=15)
Отторжение	3 (20 %)	5 (33 %)
ACR	3	3
Лёгкое (RAI 4–5)	1	1
Среднее (RAI 6–7)	1	1
Тяжёлое (RAI 8–9)	-	1
AMR	1	2
MMP-10, %	15 (5; 25)*	20 (10; 30)
Каспаза 3, %	80 (70; 85)	82,5 (80; 87,5)

Примечание – * – отличие достоверно по отношению к контрольной группе, p<0,05.

Комплексная оценка лабораторных показателей и результатов морфологического исследования показала, что замедленное восстановление функции печени обусловлено иммунологическими нарушениями и соответствует данным гистологического исследования трансплантата. В группе без применения МСК значительное повышение АСТ и АЛТ коррелировало с увеличением частоты и выраженности иммунологических осложнений.

Иммуногистохимическое исследование трансплантатов показало, что экспрессия MMP-10 при применении МСК была достоверно ниже и составила 15% (5; 25) . В контрольной группе этот показатель составил 20 % (15; 30) (MW, p=0,046), рис. 1.

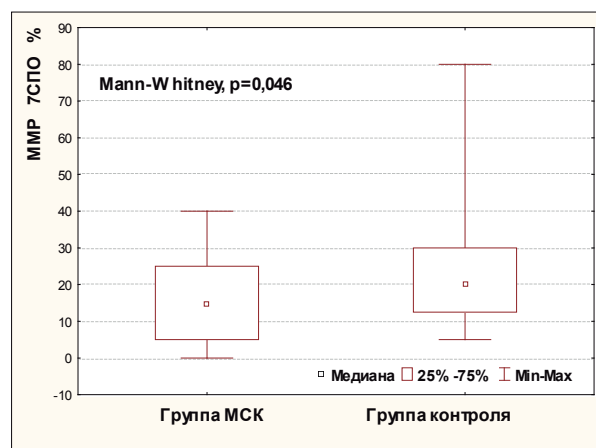


Рисунок 1 – Среднее значение уровня экспрессии MMP10 в биоптатах трансплантата печени на 7 СПО.
Figure 1 – Mean of MMP10 expression level in liver transplant biopsies at 7 POD.

Изучение экспрессии каспазы-3 в гепатоцитах трансплантатов исследуемых групп не выявило статистически значимой разницы этого показателя.

Анализ маркеров воспалительного синдрома выявил тенденцию к менее выраженной воспалительной реакции в группе системной терапии МСК (табл. 6).

На 7 СПО уровень С-реактивного белка (СРБ) и прокальцитонина (ПКТ) был достоверно выше в группе сравнения. Уровень CRP в группе МСК составил 34 (16; 68) мг/л, в контрольной группе – 55,5 (21,5; 134), ПКТ – 0,9 (0,58; 1,65) против 3,79 (1,34; 4,6) нг/мл (MW, p<0,05).

Определение концентрации такролимуса в различные СПО показало, что уровень иммуносупрессанта в крови был ниже на протяжении всего раннего послеоперационного периода в группе применения МСК (табл. 7, рис. 2).

На 7 СПО отличие по концентрации такролимуса имело статистическую значимость – 3,1 (2,2; 4,9) против 4,7 (3,1; 7,8) нг/мл (MW, p<0,05; рис. 3).

Клиническое значение разницы концентраций такролимуса в группах заключается в том, что МСК позволяют поддерживать дозу такролимуса на более низком уровне без нарушения функции трансплантата.

Анализ течения послеоперационного периода показал, что применение МСК не оказывало статистически достоверного влияния на частоту развития хирургических осложнений после трансплантации печени (F, p>0,05; табл. 8).

Таблица 6 – Сравнительная характеристика маркеров воспалительного синдрома**Table 6** – Comparative characteristics of inflammatory syndrome markers

Показатели	Группа	СПО, сутки			
		1	4	7	10
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	СТ МСК	9 (5,3; 10)	5,4 (3,2; 8,9)	7,8 (4,2; 10)	7,56 (5,3; 9)
	контр	11 (7; 19)	7,4 (5,1; 13)	8,2 (7,2; 13)	9,3 (5; 12)
Палочкоядерные нейтрофилы, %	СТ МСК	12,5 (7,5; 13,5)	10,5 (4,5; 13,5)	7,5 (4; 11)	6 (2; 10)
	контр	14 (10; 18)	13 (7; 15)	13 (8; 19)	9 (7; 10)
С-реактивный белок, мг/л	СТ МСК	43,5 (30,5; 67,5)	22 (15; 32)	34* (16; 68)	18 (12,3; 34)
	контр	58 (34; 75)	33,15 (21,3; 74,5)	55,5 (21,5; 134)	20 (16; 41)
Прокальцитонин	СТ МСК	10,5 (8,5; 25)	3,6 (1,9; 7)	0,9* (0,58; 1,65)	1 (0,06; 2,3)
	контр	19 (9,56; 41)	8,4 (4,4; 17)	3,79 (1,34; 4,6)	1,8 (1,12; 15)

Примечание – * – отличие достоверно по отношению к контрольной группе, $p < 0,05$.

Таблица 7 – Сравнительная характеристика концентраций такролимуса в группах**Table 7** – Comparative characteristics of Tacrolimus concentrations in groups

Сутки	Группа	СПО				
		2	4	7	10	14
Тас, нг/мл	СТ МСК	0 (0; 0)	2 (0; 2,9)	3,1* (2,2; 4,9)	4,5 (2,4; 5,8)	4,95 (3,05; 6,85)
	контр	0 (0; 1,5)	2,3 (1; 3,9)	4,7* (3,1; 7,8)	5,7 (3; 7)	6,7 (3,5; 7,8)

Примечание – * – отличие достоверно по отношению к контрольной группе, $p < 0,05$.

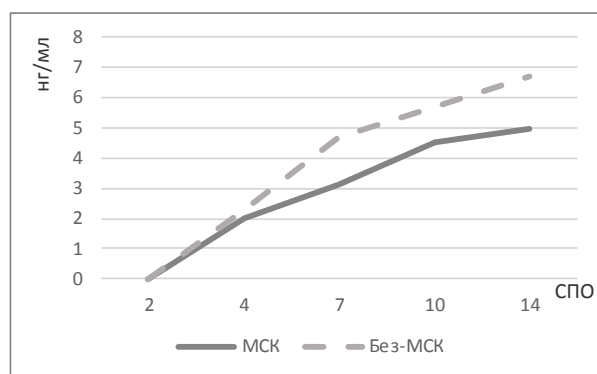


Рисунок 2 – Динамика концентрации такролимуса в раннем послеоперационном периоде.
Figure 2 – Dynamics of Tacrolimus concentration in the early postoperative period

Длительность нахождения пациентов в отделении интенсивной терапии составила в исследуемой группе 3 (3; 4) суток, в контрольной группе – 4 (2; 7) суток; продолжительность госпитализации – 18 (14; 23) и 20 (17; 25) суток соответственно (MW, $p > 0,05$).

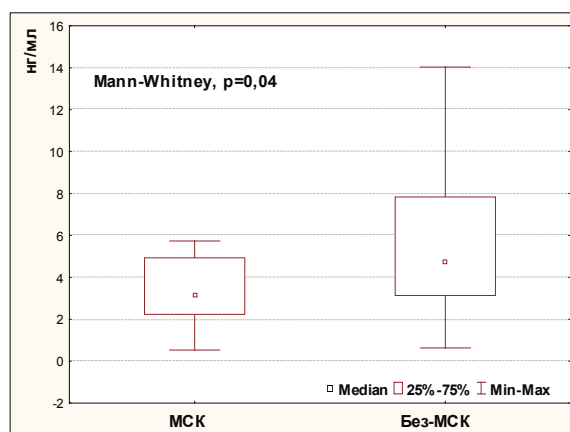


Рисунок 3 – Среднее значение концентрации такролимуса в группах на 7 СПО
Figure 3 – Mean Tacrolimus concentration in groups at 7 POD

В рамках исследования было установлено, что терапия МСК способствует эффективному восстановлению функции печеночного трансплантата. В группе пациентов, получавших МСК,

Таблица 8 – Хирургические осложнения после трансплантации печени в раннем послеоперационном периоде (абс./%)

Table 8 – Surgical complications after liver transplantation in the early postoperative period (abs./%)

Осложнение	Группа МСК (n=15)		Контрольная группа (n=15)	
Сосудистые:				
артериальные (стеноз печеночной артерии)	1	6,5 %	2	13 %
Билиарные:				
анастомотическая структура	1	6,5 %	2	13 %
ИОХВ (инфекция области хирургического вмешательства)	1	7 %	2	13 %
Поверхностная	1	6,5 %	0	0 %
Глубокая	0	0 %	1	6,5 %
Внутрибрюшное кровотечение	0	0 %	1	6,5 %

наблюдалось снижение частоты и выраженности острого клеточного отторжения и более быстрая нормализация биохимических показателей функции печени.

Уровень экспрессии MMP-10 в биоптатах трансплантата также был ниже в группе МСК, что указывает на более благоприятный иммунологический профиль у пациентов, получивших клеточную терапию.

Более низкий уровень воспалительных маркеров (CRP и прокальцитонина) в основной группе указывает на меньший риск развития инфекционных осложнений. При этом возможность поддержания более низких концентраций та- кролимуса в сочетании с уменьшением частоты

иммунологических дисфункций свидетельствует об оптимальной глубине иммуносупрессии.

Полученные результаты согласуются с современными представлениями об иммуномодулирующих свойствах МСК и их способности индуцировать толерогенный фенотип иммунного ответа, что позволяет рассматривать системное применение МСК как перспективный метод иммуносупрессивной терапии после трансплантации печени [6–10].

Выводы

1. Внутривенное введение МСК является безопасным методом иммуносупрессивной терапии, что подтверждено отсутствием местных и системных осложнений.

2. Системное применение мезенхимальных стволовых клеток является эффективным методом ИСТ, что подтверждается более низкой экспрессией MMP-10 в трансплантате – 15 (5; 25) против 20 % (10; 30) (MW, $p=0,046$); меньшей частотой развития острого клеточного отторжения (20 % против 33 % в контрольной группе); ускоренным восстановлением функции пересаженной печени – к 10 СПО уровень АЛТ составил 78 (63; 136) против 98 (66; 167) Ед/л, билирубина – 34 (32; 48) против 53 (39; 138) ммоль/л (MW, $p<0,05$).

3. Применение МСК сопровождается менее выраженным системным воспалительным ответом, что подтверждается более низкими уровнями СРБ (34 против 55,5 мг/л) и ПКТ (0,9 против 3,79 нг/мл) на 7 сутки после операции ($p<0,05$).

4. Использование МСК позволяет минимизировать концентрацию ингибиторов кальци- нейрина без риска развития иммунологической дисфункции трансплантата – 3,1 (2,2; 4,9) против 4,7 (3,1; 7,8) нг/мл на 7 СПО (MW, $p<0,05$).

References

- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on liver transplantation. *J Hepatol.* 2024;81(6):1040-1086. doi: 10.1016/j.jhep.2024.07.032.
- Cicalese L, Walton ZC, Du X, Kulkarni R, Qiu S, El Hag M, Stevenson HL. Antibody-Mediated Rejection in Liver Transplantation: Immuno-Pathological Characteristics and Long-Term Follow-Up. *Transpl Int.* 2024;37:13232. doi: 10.3389/ti.2024.13232.
- Kamali K, Schmelzle M, Kamali C, Brunnbauer P, Splith K, Leder A, Berndt N, Hillebrandt KH, Raschzok N, Feldbrügge L, Felsenstein M, Gaßner J, Ritschl P, Lurje G, Schöning W, Benzing C, Pratschke J, Krenzien F. Sensing Acute Cellular Rejection in Liver Transplant Patients Using Liver-Derived Extracellular Particles: A Prospective, Observational Study. *Front Immunol.* 2021;12:647900. doi: 10.3389/fimmu.2021.647900.
- Sundaram V, Mahmud N, Perricone G, Katarey D, Wong RJ, Karvellas CJ, Fortune BE, Rahimi RS, Maddur H, Jou JH, Kriss M, Stein LL, Lee M, Jalan R; Multi-Organ Dysfunction, Evaluation for Liver Transplantation (MODEL) Consortium. Longterm Outcomes of Patients Undergoing Liver Transplantation for Acute-on-Chronic Liver Failure. *Liver Transpl.* 2020;26(12):1594-1602. doi: 10.1002/lt.25831.
- Panackel C, Mathew JF, Fawas N M, Jacob M. Immunosuppressive Drugs in Liver Transplant: An Insight. *J Clin Exp Hepatol.* 2022;12(6):1557-1571. doi: 10.1016/j.jceh.2022.06.007.
- Vandermeulen M, Grégoire C, Briquet A, Lechanteur C, Beguin Y, Detry O. Rationale for the potential use of mesenchymal stromal cells in liver transplantation. *World J Gastroenterol.* 2014;20(44):16418-16432. doi: 10.3748/wjg.v20.i44.16418.
- Wen F, Yang G, Yu S, Liu H, Liao N, Liu Z. Mesenchymal stem cell therapy for liver transplantation: clinical progress and immunomodulatory properties. *Stem Cell Research and Therapy.* 2024;15(320):1-12. doi: 10.1186/s13287-024-03943-6.
- Basok YuB, Ponomareva AS, Grudin NV, Kruglov DN, Bogdanov VK, Belova AD, Sevastianov VI. Применение мезенхимальных стромальных клеток при трансплантации solid-ных органов: вызовы и перспективы (систематический обзор) [Use of mesenchymal stem cells in solid organ transplantation: challenges and prospects (systematic review)]. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov* [Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs]. 2025;27(1):114-134. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2025-1-114-134>. (Russian).

9. Sun Q, Huang Z, Han F, Zhao M, Cao R, Zhao D, Hong L, Na N, Li H, Miao B, Hu J, Meng F, Peng Y, Sun Q. Allogeneic mesenchymal stem cells as induction therapy are safe and feasible in renal allografts: pilot results of a multicenter randomized controlled trial. *J Transl Med*. 2018;16(1):52. doi: 10.1186/s12967-018-1422-x.
10. Li J, Thomson AW, Rogers NM. Myeloid and Mesenchymal Stem Cell Therapies for Solid Organ Transplant Tolerance. *Transplantation*. 2021;105(12):e303-e321. doi: 10.1097/TP.0000000000003765.
11. Sovet Ministrov Respubliki Belarus. Klinicheskij protokol „Transplantacija pecheni (vzrosloe i detskoe naselenie)“. Postanovlenije № 31 (Feb 13, 2023) [Internet]. Available from: <https://minzdrav.gov.by/upload/dadvfiles/CProtokol/T-печень.pdf> (Russian).
12. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop DJ, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-7. doi: 10.1080/14653240600855905.
13. Demetris AJ, Bellamy C, Hübscher SG, O'Leary J, Randhawa PS, Feng S, Neil D, Colvin RB, McCaughan G, Fung JJ, Del Bello A, Reinholt FP, Haga H, Adeyi O, Czaja AJ, Schiano T, Fiel MI, Smith ML, Sebach M, Tanigawa RY, Yilmaz F, Alexander G, Baiocchi L, Balasubramanian M, Batal I, et al. 2016 Comprehensive Update of the Banff Working Group on Liver Allograft Pathology: Introduction of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant*. 2016;16(10):2816-2835. doi: 10.1111/ajt.13909.
14. Borbat AM, Dubova EA, Gaynullina ER, Lishchuk SV. Protokol gistologicheskogo issledovaniya disfunkcii transplantata pecheni [Protocol for histological examination of liver transplant dysfunction]. *Arkhiv patologii*. [Russian journal of archive of pathology]. 2019;81(6):71-73. doi: 10.17116/patol20198106171. (Russian).
15. Shkalova LV, Mogeiko NP, Ilijinsky IM, Moysyuk YG, Tsurulnikova OM, Gautier SV. Diagnostika ostrogo otkorzhneniya po punkcionnym biopstatam allotransplantirovannoj pecheni [The diagnosis of liver allograft acute rejection in liver biopsies]. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov* [Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs]. 2011;13(3):15-19. edn: OHFDGT. (Russian).
16. Duarte S, Baber J, Fujii T, Coito AJ. Matrix metalloproteinases in liver injury, repair and fibrosis. *Matrix Biol*. 2015;44-46:147-56. doi: 10.1016/j.matbio.2015.01.004.
17. Fedaruk DA, Kirkovsky LV, Sadousky DN, Petrenko KI, Lebedz OA, Fedaruk AM, Rummo OO. Vliyanie gipotermicheskoy oksigenirovannoj mashinnoj perfuzii na stepen ishemičeskogo povrezhdeniya transplantatov pecheni [Influence of hypothermic oxygenated machine perfusion on the degree of ischemic damage of ecd liver grafts]. *Voennaja medicina* [Military medicine]. 2020;2:68-75. edn: PRQTKA. (Russian).
18. Truhachjova NV. Matematicheskaja statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s primeneniem paketa Statistica. Moskva: GJeOTAR-Media; 2013. 379 p. (Russian).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Сведения об авторах.

Коротков Сергей Владимирович, канд. мед. наук, доц., ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: skorotkov@tut.by, ORCID: 0000-0002-8536-6911.

Дедюля Наталья Ивановна, канд. мед. наук, доц., ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: k.nazarova-86@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7147-4834.

Романова Ирина Александровна, ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: ekatherina999@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0966-7456.

Лебедь Ольга Александровна, УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро», e-mail: lebedz.olga@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6972-9903

Крученюк Евгений Юрьевич, ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: e.kruchonok@gmail.com, ORCID: 0009-0000-7905-472X

Федорук Алексей Михайлович, д.м.н., профессор, ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: doctorfam@mail.ru, ORCID: 0009-0003-1174-4179

Щерба Алексей Евгеньевич, д-р мед. наук, проф., ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: aleina@tut.by, ORCID: 0000-0003-0569-6150

Кривенко Светлана Ивановна, д-р мед. наук, проф., ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: svtl_kr@tut.by, ORCID: 0000-0002-3011-2287

Руммо Олег Олегович, д-р мед. наук, проф., академик НАН РБ, ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», e-mail: olegrumm@tut.by, ORCID: 0000-0001-7023-4767

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Financing. The study was performed without external funding. Conformity with principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Information about the authors:

Korotkov Sergey V. (corresponding author), PhD (Medicine), Associate Professor, «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology», e-mail: skorotkov@tut.by, ORCID: 0000-0002-8536-6911.

Dedyulya Natalia I., PhD (Biology), Associate Professor, «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology», e-mail: k.nazarova-86@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7147-4834

Romanova Irina A., «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology», e-mail: ekatherina999@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0966-7456

Lebed Olga A., City Clinical Pathoanatomical Bureau, e-mail: lebedz.olga@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6972-9903

Kruchenok Evgeny Y., «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology», e-mail: e.kruchonok@gmail.com, ORCID: 0009-0000-7905-472X

Fedoruk Alexey M., PhD, MD (Medicine), Professor, «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology», e-mail: doctorfam@mail.ru, ORCID: 0009-0003-1174-4179

Shcherba Aleksey E., PhD, MD (Medicine), Professor, «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology», e-mail: aleina@tut.by, ORCID: 0000-0003-0569-6150

Krivenko Svetlana I., PhD, MD (Medicine), Professor, «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology», e-mail: svtl_kr@tut.by, ORCID: 0000-0002-3011-2287

Rummo Oleg O., PhD, MD (Medicine), Professor, Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Belarus, «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology», e-mail: olegrumm@tut.by, ORCID: 0000-0001-7023-4767

Поступила: 24.03.2025

Принята к печати: 25.04.2025

Received: 24.03.2025

Accepted: 25.04.2025