



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 122380

(13) U

(51) МПК

A61K 35/48 (2015.01)

A61P 1/06 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**(21)** Номер заявки: **u 2017 04869****(22)** Дата подання заявки: **22.05.2017****(24)** Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.01.2018****(46)** Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.01.2018, Бюл.№ 1****(72)** Винахідник(и):**Демчук Марія Петрівна (UA),
Матіяшук Ірина Георгіївна (UA),
Сич Наталія Сергіївна (UA),
Клунник Марія Олексіївна (UA),
Іванкова Олена Віталіївна (UA),
Скалозуб Марина Вікторівна (UA),
Сінельник Андрій Аркадійович (UA),
Сорочинська Христина Ігорівна (UA)****(73)** Власник(и):**ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "ЦЕНТР
ЕМБРІОНАЛЬНИХ ТКАНИН "ЕМСЕЛЛ",
вул. Сирецька, 37-а, м. Київ, 04073 (UA)****(54) СПОСІБ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ВИРАЗКОВОГО КОЛІТУ З
ВКЛЮЧЕННЯМ ПРЕПАРАТІВ З МАТЕРІАЛУ ЕМБРІОФЕТАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ ТА ВИДІЛЕНИХ З
НЬОГО КЛІТИН****(57)** Реферат:

Спосіб комплексного лікування неспецифічного виразкового коліту, який включає парентеральне введення біологічного матеріалу, що містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, причому як біологічний матеріал застосовують кріоконсервовані препарати з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді розмороженої суспензії стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетусу людини 5-12 тижня гестації, при цьому основна суспензія містить стовбурові клітини з фетальної печінки з кількістю ядровмісних клітин не менше за $1,0 \times 10^6$ в 1 мл та відсотком живих клітин не менше 70 %, а щонайменше одна додаткова суспензія містить стовбурові клітини, вибрані з групи, яка включає стовбурові клітини гемопоєзу селезінки, стовбурові нервові клітини мозку, стовбурові клітини з екстракту м'яких тканин, хоріону та суміші клітин щонайменше двох зазначених видів, причому основну суспензію вводять внутрішньовенно в об'ємі, не меншому ніж 0,1 мл, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять на фоні проведення загальноприйнятої терапії.

UA 122380 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме: до внутрішніх хвороб і клітинної терапії, та може бути використана для лікування неспецифічного виразкового коліту (НВК) шляхом введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензій, що містять стовбурові клітини, на фоні загальноприйнятої терапії.

Неспецифічний виразковий коліт (НВК) - це хронічне рецидивуюче запальне захворювання невиясненого походження, що клінічно проявляється періодами кривавої діареї і патоморфологічно дифузним запальним процесом в стінці товстої кишки. Уражаються слизова і підслизова оболонки кишкової стінки, для гострих форм - характерно втягнення в процес м'язової та серозної оболонок. Ураження, як правило, починається від зубчастої лінії та поширюється проксимально. Поширення патологічного процесу відбувається постійно і не залишається жодної ділянки не ураженої патологічним процесом. Форма та розміри виразок різноманітні, краї рівні та підриті. Тяжкість морфологічних змін нарастає в дистальному напрямку і вони найбільш виражені в низхідному відділі та в сигмовидній кишці. Вважають, що до цих проблем призводять генетична схильність (виявлені HLA-маркери), мікробний фактор (різні штами *Escherichia Coli*), порушення проникливості кишкового бар'єру, фактори оточуючого середовища, нераціональне харчування, порушення регуляції місцевої імунної відповіді.

Поширеність виразкового коліту в різних країнах Європи коливається від 50 до 200 випадків на 100 000 населення. Розповсюдженість запальних захворювань кишечника безперервно зростає. Рання інвалідизація пацієнтів молодого працездатного віку у 15-25 % відбувається в перші 5 років захворювання. Виразковий коліт - захворювання, що триває впродовж життя та пов'язане з ускладненням соціально-психологічного добробуту людини [7].

Клінічні прояви НВК залежать від поширеності захворювання та ступеня тяжкості запального процесу: часте випорожнення кишечника, хибні позиви до дефекації, болючі позиви до дефекації, випорожнення в нічний час, відчуття неповного вивільнення кишечника, домішки крові та слизу у випорожненнях, біль та бурчання в животі, болі в суглобах, ураження шкіри (піодермія, вузлувата еритема), нориці, гарячка, прискорене серцебиття, набряки, підвищена втомлюваність, загальна слабкість, втрата ваги, зниження працездатності. Всі ці прояви часто призводять до астеноіпохондричного та депресивного синдромів, канцерофобії, низької якості життя.

Лікування хворих на НВК надзвичайно складна проблема. Шляхи її реалізації впливають із ступеня активності захворювання, поширеності та локалізації процесу, наявності тих чи інших ускладнень. Також потрібно враховувати індивідуальні особливості пацієнта, а саме: вік, стать, супутню патологію, можливу медикаментозну непереносимість. Основна мета лікування: зменшити вираженість клінічних проявів захворювання, попередити виникнення рецидивів, покращити якість життя пацієнтів [8].

Лікування НВК включає: консервативне: немедикаментозне лікування - дієта; медикаментозне - препарати 5-аміносаліцилової кислоти (сульфасалазин, месалазин), глюкокортикостероїди місцевої чи системної дії, імуносупресивні препарати - метотрексат, азатіоприн, циклоспорин А). Впродовж останніх років широко впроваджують біологічну терапію. Основну групу препаратів біологічної дії складають моноклональні антитіла до ФНО- α (інфліксимаб, адаліумаб, голіумаб) та цетроліумаб Pegol).

При виникненні ускладнень проводять хірургічне лікування.

Існуючі методи лікування не завжди дозволяють досягти тривалої ремісії, отримати повне загоєння слизової оболонки, уникнути ускладнень як від самого захворювання так і від терапії, яку пацієнт отримує, знизити частоту госпіталізацій та хірургічних втручань, досягти високого рівня якості життя. Ці та багато інших проблем в лікуванні НВК спонукають до пошуку нових способів лікування цього захворювання.

Відомий спосіб лікування виразкового коліту, запропонований Князевим О.В., Каграмановою А.В., Болдиревою О.Н. та ін., в якому використовують автогенні мезенхімальні стовбурові клітини (МСК). Культуру МСК вводять внутрішньовенно крапельно в дозі 1,5-2 млн./кг ваги тіла. Для здійснення системної трансплантації застосовують 120-160 млн. алогенних МСК, розмнужених в культурі. Суспензію клітин вводять на фоні 200 мл стерильного фізіологічного розчину, який містить гепарин в концентрації 50 ОД/мл шляхом постановки крапельниці пацієнту. Введення триває впродовж 40-60 хв. З метою профілактики трансфузійних реакцій та ускладнень вводять внутрішньовенно 30 мг преднізолону і/або 2 мл супрастину [9].

Автори відомого способу лікування вважають, що найбільш раннє включення в комплексну терапію культури МСК дозволяє підвищити ефективність протизапальної терапії запальних захворювань кишечника. МСК покращують клінічні та мікроскопічні прояви коліту, зменшують системну та локальну продукцію протизапальних цитокінів. Однак, відомий спосіб лікування має деякі недоліки, зокрема, для його реалізації у пацієнта повинна бути достатня кількість здорових

клітин кісткового мозку. Отримані клітини потрібно культивувати до певної кількості, що забезпечить терапевтичну ефективність. Виділена популяція МСК гетерогенна за морфологічними характеристиками та різною здатністю до проліферації та диференціювання. В процесі культивування знижується потенціал самовідновлення.

5 Відомий спосіб лікування запальних захворювань кишечника шляхом застосовування внутрішньовенного введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку людини на фоні 200 мл фізіологічного розчину в дозі $1,5-2,0 \cdot 10^{11}$ клітин впродовж 3-4 годин (патент на винахід РФ № 2364405, дата публікації-20.08.2009).

10 Відомий спосіб дозволяє здійснювати лікування запальних захворювань кишечника без застосування фармакологічних препаратів. Основний недолік - це необхідність підбору HLA сумісного здорового донора.

15 Відомий спосіб терапії виразкового коліту, що включає попереднє отримання клітин кісткового мозку в об'ємі 0.5-1.0 мл та розмножування мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) в необхідній для системної трансплантації кількості (150-200 млн.). Отриману культуру МСК (150-200 млн.) розчиняли в 0,5-1,5 мл стерильного фізіологічного розчину, який містив гепарин в концентрації 10 ОД/мл та проводили обколювання ін'єктором, проведеним через інструментальний канал ендоскопа, змінені ділянки слизової оболонки в 4-5 точках рівними об'ємами МСК від 0,1 до 0,3 мл (патент на винахід Російської Федерації № 2460554, дата публікації -10.09.2012 р.)

20 Відомий спосіб лікування має деякі недоліки, зокрема, процедура отримання клітин кісткового мозку є достатньо болючою. Отримані клітини потрібно культивувати до певної кількості, що забезпечить терапевтичну ефективність. Виділена популяція МСК гетерогенна за морфологічними характеристиками та різною здатністю до проліферації та диференціювання. В процесі культивування знижується потенціал самовідновлення. Також вибраний ендоскопічний метод введення МСК достатньо психологічно травматичний для багатьох пацієнтів.

25 Відомий спосіб лікування виразкового проктосигмоїдиту шляхом введення лікувального препарату, в якості якого вводять кондиційне середовище стовбурових клітин в пряму кишку у вигляді мікроклізм об'ємом 30-50 мл 1-3 рази на день впродовж 10-14 днів (патент на винахід Російської Федерації № 2367450, дата публікації - 20.09.2009).

30 Відомий спосіб лікування виразкового коліту, що включає приготування та введення фармацевтичної композиції, яка включає терапевтично ефективну кількість людських ембріональних стовбурових (hES) клітин та/або їхніх похідних, які є вільними від тваринних продуктів, живильних клітин, факторів росту і т. д. (патент на винахід України № 99813, дата публікації - 10.10.2012 р., кл. МПК: А61К35/48). Композицію отримують шляхом культивування людських ембріональних стовбурових (hES) клітин, відокремлених від 2-7-денних ембріонів. Спосіб включає введення від приблизно 750 000 до приблизно 160 мільйонів hES клітин та/або їхніх похідних. Введення фармацевтичної композиції здійснюють через внутрішньовенну інфузію, внутрішньом'язову, внутрішньовенну, підшкірну ін'єкції, шляхом місцевого застосування або введення всередину ураженої тканини і т. п.

40 Недоліком відомого способу лікування є постійні дебати стосовно можливості використання незатребуваних бластоцист для виділення ЕСК. Також існує небезпека виникнення тератом. Крім того, недоліком відомого способу лікування є складність приготування препарату, що містить стовбурові клітини, а саме необхідність їх культивування.

45 Відоме застосування ембріональних клітинних суспензій, виготовлених на основі окремих ембріональних органів, що містять клітини людського ембріона, які складаються з клітин печінки, селезінки, суміші клітин печінки і селезінки, а також клітин тимусу, головного мозку та первинного харчового каналу, які знаходяться в нативному або кріоконсервованому стані і які протестовані на життєздатність та біологічну безпеку, для лікування функціональних, запальних і/або онкологічних захворювань тонкої або товстої кишок (патент України на винахід № 63889, дата публікації - 16.02.2004р.). Для приготування лікарського препарату використовують ембріони 5-14 тижнів гестації. Винахідник стверджує, що в клітинній суспензії зберігається безклітинна рідина, яка входить в склад ембріонального органу та містить велику кількість біологічних активних речовин. Вона може впливати, окрім відновлення гематологічних імунних порушень, також на обмін речовин, проникність бар'єрів, судин, має прямиий протизапальний ефект, викликає зростання судин, зміцнює бар'єрні утворення, має вплив на ріст нервів, зменшує явища дистрофії. Найбільш часто використовують внутрішньовенне введення, хоча можливий підшкірний, внутрішньочеревний, внутрішньокістковий, локальний та ін. шляхи введення клітин. Для лікування захворювань тонкої і товстої кишок лікарські препарати на основі ембріональних клітинних суспензій можуть застосовуватися порізно, а також в поєднанні

одна з одною. Поєднання залежить від характеру хвороби, її активності, вираженості основних симптомів, супутніх захворювань та індивідуальних особливостей пацієнта.

Найбільш близьким до способу лікування неспецифічного виразкового коліту, що заявляється, є спосіб лікування людей ембріональними клітинними суспензіями, який включає приготування суспензії, що містить клітини людського ембріона з терміном гестації 5-14 тижнів, яка складається з гемопоетичних клітин печінки, гемопоетичних клітин селезінки та їх суміші (Патент України на винахід № 64826, дата публікації - 15.03.2004 р.). Причому фармацевтично прийнятне рідке середовище 1 мл якого містить ядровмісні клітини - $5-200 \times 10^6$, колонієутворюючі одиниці гранулоцитів/макрофагів - $20-200 \times 10^3$, колонієутворюючі одиниці гранулоцитів, еритроцитів, моноцитів/макрофагів і мегакаріоцитів - $0,5-10 \times 10^3$, ранні попередники гемопоєзу CD34+ - $1-20 \times 10^6$. Спосіб передбачає одноразове введення такої приготованої ех темроге або кріозамороженої суспензії в організм реципієнта, а також поряд з зазначеною основною суспензією виготовляють та вводять щонайменше одну додаткову суспензію, що містить стовбурові клітини гемопоєзу печінки, стовбурові клітини гемопоєзу селезінки, гепатоцитів, тимоцитів, епітеліоцитів первинного харчового каналу, нервових клітин мозку та суміші клітин щонайменше двох зазначених видів.

Недоліком відомого способу лікування є недостатня ефективність лікування саме неспецифічного виразкового коліту.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є удосконалення способу лікування неспецифічного виразкового коліту, в якому за рахунок використання нової комбінації препаратів ембріофетального походження разом із загальноприйнятною терапією, забезпечується зниження індексу активності захворювання, отримання клініко-ендоскопічної ремісії, подовження періоду ремісії, зменшення частоти виникнення рецидивів захворювання, усунення імунологічних порушень у пацієнта, усунення резистентності до медикаментозної терапії, зменшення проявів побічної дії медикаментів, які пацієнт застосовує, при підвищенні ефективності лікування та покращенні якості життя пацієнта в цілому.

Технічний результат полягає в усуненні активності патологічного процесу за клініко-лабораторними ознаками, зменшенні та усуненні ознак запалення слизової кишечника, що підтверджують ендоскопічні методи дослідження, регрес системних проявів, профілактиці ускладнень, підвищенні якості життя пацієнта.

Поставлена задача вирішується запропонованим способом комплексного лікування неспецифічного виразкового коліту, що включає парентеральне введення біологічного матеріалу, що містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, в якому як біологічний матеріал застосовують кріоконсервовані препарати з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді розмороженої суспензії стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетусу людини 5-12 тижня гестації, при цьому основна суспензія містить стовбурові клітини з фетальної печінки з кількістю ядровмісних клітин не менше за $1,0 \times 10^6$ в 1 мл та відсотком живих клітин не менше 70 %, а щонайменше одна додаткова суспензія містить стовбурові клітини, вибрані з групи, яка включає стовбурові клітини гемопоєзу селезінки, стовбурові нервові клітини мозку, стовбурові клітини з екстракту м'яких тканин, хоріону та суміші клітин щонайменше двох зазначених видів, причому основну суспензію вводять внутрішньовенно в об'ємі, не меншому ніж 0,1 мл, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять одночасно з загальноприйнятною терапією.

Причому, щонайменше одну додаткову суспензію вводять підшкірно чи внутрішньом'язово.

При цьому основну суспензію вводять внутрішньовенно крапельно на фоні 200 мл 0,9 % фізіологічного розчину натрію хлориду зі швидкістю 20-40 крапель за хвилину.

Перед внутрішньовенним введенням основної суспензії додатково проводять премедикацію шляхом внутрішньовенного струминного введення 10 мг димедролу та 30 мг преднізолону.

Перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин пацієнт додатково проходить повне загально-клінічне лабораторне обстеження, яке обов'язково включає: загальний аналіз крові (визначення ШОЕ, числа еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів, тромбоцитів); біохімічний аналіз крові, що включає обов'язкове визначення: загальний білок та білкові фракції, цукор крові, печінкові та ниркові проби, С-реактивний протеїн; копрограму; загальний аналіз сечі.

Перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин пацієнт додатково проходить додаткові лабораторні обстеження, а саме: імунограму, визначення онкомаркерів.

Перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин пацієнт проходить ЕКГ.

Перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин проводять ультразвукове дослідження органів черевної порожнини.

Перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин проводять ендоскопічне дослідження товстої кишки (ректороманоскопія або 5 сигмоїдоскопія з біопсією, або колоноскопія). При неможливості виконання колоноскопії для встановлення протяжності ураження товстої кишки при ремісії захворювання рекомендується іригоскопія. Дослідження не призначають при тяжкій формі захворювання.

Перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин, при необхідності, пацієнт додатково проходить комп'ютерну томографію з 10 контрастуванням внутрішньовенно та перорально; магнітно-резонансну томографію з введенням контрасту та з додаванням метилцелюлози. Перелік вказаних досліджень встановлює лікуючий лікар індивідуально.

Спосіб комплексного лікування неспецифічного виразкового коліту використовують наступним чином.

15 Для цього застосовують препарати ембріофетального походження, виділені з труп ембріону людини. Ембріони отримують після штучного переривання вагітності по соціальних показаннях у здорових жінок. В кріобанку підбирають суспензію стовбурових клітин з фетальної печінки з потрібними характеристиками, а саме термін гестації 5-12 тижнів, кількість 20 ядровмісних клітин не менше $1,0 \times 10^6$ /мл, відсоток живих клітин не менше 70 %, загальний об'єм препарату не менше 0,1 мл на курс лікування, враховувати стать не обов'язково. Клінічними спостереженнями доведено, що недоцільно застосовувати об'єми суспензій, що перевищують 8 мл на один курс лікування.

Препарат підбирають індивідуально для кожного пацієнта. Розморожування суспензії проводять за стандартним протоколом. Контейнери безпосередньо перед введенням виймають 25 з рідкого азоту, занурюють у водяну баню при температурі $+37^\circ\text{C}$ та витримують до появи рідкої фази. Подальші маніпуляції проводять при кімнатній температурі з суворим дотриманням правил асептики. Час перебування розморожених суспензій стовбурових клітин при кімнатній температурі не повинен перевищувати 2 години. При цьому перед введенням суспензій здійснюють додатковий контроль їх якості, зокрема, проводять мікроскопію та здійснюють 30 підрахунок кількості життєздатних клітин за допомогою автоматичного клітинного аналізатора чи візуально під мікроскопом в лічильній камері.

Основну суспензію, що містить стовбурові клітини з фетальної печінки, вводять внутрішньовенно крапельно через систему для переливання крові на фоні 200 мл 0,9 % 35 фізіологічного розчину натрію хлориду після попередньої премедикації внутрішньовенно струминно 10 мг димедролу та 30 мг преднізолону. Швидкість введення клітин 20-40 крапель за хвилину.

Всі суспензії, що знаходяться в кріобанку для клінічного застосування, пройшли бактеріологічний та вірусологічний контроль (HIV1, HIV2, HBV, HCV, HGV, HPV, CMV, EBV, 40 HHV6, HSV 1,2, Rubella, Parvovirus B19, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamidia trachomatis, Mycoplasma hominis, Mycoplasma genitalium, Ureaplasma Parvum, Urealyticum), мають визначену кількість ядровмісних клітин та CD34+, кількість КУО, визначену життєздатність клітин до кріозаморожування.

Основну суспензію стовбурових клітин з фетальної печінки з визначеними характеристиками взірця підбирають індивідуально.

45 Клінічний ефект можна підсилити додатковим введенням щонайменше однієї суспензії, що містить стовбурові клітини гемопоєзу селезінки, стовбурові нервові клітини мозку, стовбурові клітини з екстракту м'яких тканин, хоріону та суміші клітин щонайменше двох зазначених видів. Кожну додаткову суспензію вводять послідовно впродовж декількох днів, або комбінують з 50 основною та між собою. В конкретному випадку комбінація суспензій та їх послідовність введення може бути різною, що визначає індивідуальність пацієнта, тобто його існуючі проблеми зі здоров'ям. Як правило, всі додаткові суспензії вводять послідовно підшкірно, створюючи депо в підшкірно-жировій клітковині. Також можливий зворотній шлях введення препаратів ембріофетального походження, зокрема, лікування можна розпочати з підшкірного чи внутрішньом'язового введення екстракту м'яких тканин, хоріона чи нервових клітин мозку і 55 курс лікування завершити внутрішньовенним крапельним введенням стовбурових клітин гемопоєзу селезінки та основної суспензії, що містить стовбурові клітини з фетальної печінки. У разі недосягнення потрібного результату лікування можна провести повторний курс клітинної терапії препаратами ембріофетального походження. На один курс лікування можна використовувати препарати виготовлені з трупу одного ембріона людини чи поєднувати різні

зразки між собою. Строки проведення наступних курсів встановлює індивідуально лікуючий лікар для кожного пацієнта окремо.

Після введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин пацієнт знаходиться під постійним спостереженням. Обов'язковим є клінічне та лабораторне визначення ступеня активності запального процесу через 15, 30 днів, 3 місяці, а потім кожних наступних 3 місяці. Точки спостереження вибрано відповідно до протоколу введення препаратів ембріофетального походження на основі клінічного досвіду ведення пацієнтів з неспецифічним виразковим колітом.

Шляхом довготривалого спостереження за пацієнтами, хворими на неспецифічний виразковий коліт, ми встановили, що за рахунок включення до схеми загальноприйнятої терапії введення суспензій емпірично підбраного складу, що містять кріоконсервовані стовбурові клітини ембріофетального походження, а саме внутрішньовенного крапельного введення основної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки людини 5-12 тижня гестації в об'ємі, не меншому ніж 0,1 мл, на курс лікування з кількістю ядровмісних клітин не менше, ніж $1,0 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення та відсотком живих клітин не менше 70 %, та введення щонайменше однієї додаткової суспензії, що містить стовбурові клітини, вибрані з групи, яка включає стовбурові клітини гемопоєзу селезінки, стовбурові нервові клітини мозку, екстракт м'яких тканин, хоріон, забезпечується цілеспрямований вплив на імунну систему пацієнта, стан слизової оболонки кишечника, що сприяє усуненню запального процесу та загоєнню виразок, що в свою чергу зменшує прояви діареї, ректальної кровотечі, болю в животі.

Основні лікувальні ефекти, що досягаються при проведенні способу комплексного лікування неспецифічного виразкового коліту полягають в наступному:

ліквідація (зменшення) симптомів захворювання: нормалізація випорожнень; зникнення болю, тенезмів; нормалізація температури;
 зниження ступеня важкості захворювання;
 досягнення клінічної та ендоскопічної ремісії;
 морфологічні: зменшення проявів запалення, контактної кровоточивості, зникнення ерозій, виразок;
 усунення проявів анемії;
 усунення імунологічного дисбалансу;
 зупинка втрати ваги тіла та її стабілізація;
 зменшення позакишкових проявів неспецифічного виразкового коліту;
 позитивні зміни в психофункціональній та емоційній сферах;
 зниження ризику рецидиву неспецифічного виразкового коліту;
 підвищення якості життя;
 мінімізація показань до хірургічного лікування.

Ми проаналізували 27 клінічних випадків НВК, де в комплексному лікуванні були застосовані препарати ембріофетального походження. До застосування препаратів ембріофетального походження за локалізацією запальний процес у вигляді проктиту мав місце у 5 пацієнтів, лівобічний коліт - в 14, тотальний коліт - в 8 пацієнтів. Втрата ваги тіла спостерігалась у всіх пацієнтів від 5 до 15 кг. Впродовж перших 3-х діб у всіх пацієнтів спостерігався синдром раннього післяінфузійного покращення, який полягав у відчутті приливу сили, покращенні апетиту, підвищенні фізичної та розумової активності, з'являвся оптимізм. Динаміка основних клінічних симптомів та основних лабораторних параметрів наведені в таблицях 1 та 2. Ступінь вираженості клінічних симптомів оцінювали в балах, а саме: 0 - немає, 1+ - незначно виражені, 2+ - значно виражені, 3+. Ремісію в різні терміни отримали у всіх пацієнтів без застосування кортикостероїдів.

Клінічні симптоми	До лікування	15 днів	30 днів	90 днів	180 днів	270 днів	360 днів
n-27	Оцінка в балах						
Біль у животі	3+	2+	1+	0	0	0	0
Тенезми (болючі позиви до дефекації);	3+	1+	0	0	0	0	0
Хибні позиви до дефекації	3+	1+	1+	0	0	0	0
Випорожнення в нічний час	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+
Виділення крові з прямої кишки	3+	2+	1+	1+	0	0	0
Домішки слизу у випорожненнях	3+	2+	1+	1+	1+	1+	1+
Одиниці виміру (min-max)							

Продовження таблиці

Клінічні симптоми	До лікування	15 днів	30 днів	90 днів	180 днів	270 днів	360 днів
Часте випорожнення кишечника, скільки раз	3-30	3-16	3-8	2-6	2-4	2-4	2-4
Пульс на хв.	86-98	86-92	82-90	78-86	72-84	70-84	70-84
Температура тіла, °C	37,2-37,7	36,6-37,1	36,6-37,1	≤36,8	≤36,8	≤36,8	≤36,8
	+/- кількість						
Астеноневротичний синдром	21	17	13	11	11	9	9

n-27	RR	До лікування	15 днів	30 днів	90 днів	180 днів	270 днів	360 днів
Гемоглобін, г/л	117-160	101,26± ±3,29	110,27± ±3,7	114,22± ±3,65	125,87± ±3,64	130,34± ±4,3	131,23± ±3,7	132,15± ±3,9
Загальний білок, г/л	65-85	56,2± ±8,3	58,1± ±9,3	58,8± ±8,7	68,8± ±8,7	72,8± ±11,7	73,8± ±10,7	74,9± ±8,5
ШОЕ, мм/год.	1-30	37,2± ±2,3	35,3± ±3,5	33,2± ±3,3	27,2± ±2,7	25,2± ±2,3	17,9± ±4,3	23,2± ±2,9
CRP, мг/мл	<4							
Ig A, г/л	0,9-4,5	1,59± ±0,24	2,90± ±0,27	1,89± ±0,44	3,38± ±0,74	2,67± ±0,94	3,19± ±0,14	2,91± ±0,37
Ig M, г/л	0,7-2,8	2,57± ±0,64	2,17± ±0,94	1,92± ±0,34	2,11± ±0,23	1,52± ±0,35	2,05± ±0,41	1,87± ±0,34
Ig G, г/л	8,0-18,0	16,89± ±0,45	12,59± ±0,25	17,33± ±0,27	14,59± ±0,75	15,09± ±0,65	11,39± ±0,43	12,69± ±0,71

Корисна модель, що заявляється, пояснюється наступними прикладом.

- 5 Приклад. Пацієнтка С 34 роки. Скарги на часті рідкі випорожнення з домішками свіжої крові, слизу до 5-7 разів на добу, болі спастичного характеру в ділянці живота, особливо після прийому їжі, здуття живота, загальну слабкість, сухість шкіри, боязливості вживати їжу, зниження ваги тіла до 7-9 кг впродовж останнього місяця. Вважає себе хворою впродовж 6-9 місяців. За медичною допомогою звернулась лише тоді, коли з'явилися домішки крові у випорожненнях.

- 10 Об'єктивно: Пацієнтка бліда, виснажена. Шкірні покриви та видимі слизові дещо бліді, підвищеної сухості, тургор шкіри знижений. Діяльність серця ритмічна, тони помірної звучності, чисті, м'який систолічний шум на верхівці, ЧСС - 96 на хв., АТ-90/60 мм рт. ст., Т тіла - 37,4 °C. При аускультатії в легенях везикулярне дихання, хрипів немає. Язик сухий, біля кореня обкладений біло-жовтим нальотом. Живіт правильної форми, бере участь в акті дихання. При пальпації живіт чутливий по ходу кишечника, особливо в лівій здухвинній ділянці, виражений метеоризм. Печінка біля краю реберної дуги, симптоми подразнення очеревини не визначаються. Сечовипускання без особливостей. Периферичних набряків немає.

- 20 Ректороманоскопія: Тубус введений на 20 см. Просвіт кишки звужений, складки, згладжені. Слизова набрякла, гіперемована, рихла, при контакті кровить, мають місце дрібні ерозії.

- Колоноскопія: Зона ураження поширюється за Баугінієву заслінку і на всю ободову кишку у вигляді дифузно-ерозивного процесу, відсутності судинного рисунку, згладженості гаустр. Слизова покрита слизом, кров'янисті виділення.

- 25 В лабораторних тестах звертає на себе увагу: гемоглобін - 84 г/л, еритроцити - $2,7 \times 10^{12}/л$, лейкоцити - $7,9 \times 10^9/л$, ШОЕ - 45 мм/год., загальний білок - 58 г/л, СРП - 12 мг/л.

- Клінічний діагноз: Неспецифічний виразковий коліт, хронічна форма, тотальне ураження, середнього ступеня, активність III (виражена). Вторинна залізодефіцитна анемія середнього ступеня.

- 30 Призначено: сувора дієта, сульфасалазин 4 г на добу, метронідазол 1,5 г на добу, ферменти, інфузійна терапія. Помітного покращення самопочуття не спостерігали. На 7- день до схеми лікування включили застосування препаратів ембріофетального походження: після внутрішньовенної премедикації - 10 мг димедролу та 30 мг преднізолону струменево провели внутрішньовенне крапельне введення кріоконсервованих стовбурових клітин ембріональної

печінки людини, зразок НВК179: вік ембріону 9 тижнів гестації, об'єм введеної суспензії 3,9 мл, кількість клітин, що містять ядра - 23×10^6 /мл, кількість CD34-1,6 $\times 10^6$ /мл, життєздатність - 87,4 %.

Введення хвора перенесла задовільно. В першу добу загальний стан покращився, збільшився апетит, покращився сон, нормалізувалась температура тіла. Через день провели імплантацію препаратів ембріофетального походження в підшкірно-жирову клітковину передньої черевної стінки - стовбурові клітини з екстракту м'яких тканин та хоріону (зразок НВК179309, НВК179709) в загальному об'ємі 4,5 мл. На 5-й день після внутрішньовенного введення препаратів ембріофетального походження пацієнтка відмітила значне покращення самопочуття, частота випорожнень зменшилась до 3-х разів на добу. В аналізі крові на 7 добу дещо збільшився вміст гемоглобіну та кількість еритроцитів і вони становили 93 г/л та $3,1 \times 10^{12}$ /л відповідно; ШОЕ знизилось до 32 мм/год.

Через 3 місяці порушення дієти викликало загострення захворювання. На момент огляду пацієнтка відмічала позитивну динаміку за період, що пройшов з часу проведення клітинної терапії, а саме збільшилась вага на 4 кг, зросла працездатність, може повноцінно працювати. В лабораторних тестах виявлено: гемоглобін - 108 г/л, еритроцити - $3,3 \times 10^{12}$ /л, лейкоцити - $6,9 \times 10^9$ /л, ШОЕ - 31 мм/год., загальний білок - 68 г/л, СРП - 5 мг/л.

При проведенні ректороманоскопії: Слизова набрякла, гіперемована, контактено не кровоточить, мають місце поодинокі ерозії.

Постійно приймає сульфасалазин 4 г на добу, інколи ферменти. Проведено повторний курс клітинної терапії: після внутрішньовенної премедикації - 10 мг димедролу та 30 мг преднізолону струменево провели внутрішньовенне крапельне введення кріоконсервованих стовбурових клітин гемопоєзу селезінки того самого зразка в об'ємі 3,3 мл та супутню імплантацію екстракту м'яких тканин та нервових клітин мозку підшкірно в загальному об'ємі 3.9 мл.

Через місяць після повторного введення клітин пацієнтка особливих скарг не пред'являла, дозу сульфазалазину знизила до 2 г на добу. Через 3 місяці припинила прийом будь-яких медикаментів, намагалась дотримуватись суворої дієти. Спостереження продовжується.

Отже, запропонований спосіб комплексного лікування неспецифічного виразкового коліту препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин дозволяє підвищити ефективність лікування хворих на виразковий коліт та забезпечити зменшення активності патологічного процесу за клініко-лабораторними ознаками, зменшення та усунення ознак запалення слизової кишечника при підвищенні якості життя пацієнта.

Використані джерела:

1. Смикодуб А.И., Бушнева В.А. Иммунологические нарушения при неспецифических воспалительных заболеваниях кишечника // Иммунология та алергология.-2000. - № 4. - С. 28-33.

2. Смикодуб А.И., Бушнева В.А. Лечение неспецифических воспалительных заболеваний кишечника в терапевтической практике // Сучасна гастроентерологія.-2001. - № 1. С. 52-57.

3. Смикодуб А.И., Бушнева В.А. Применение трансплантаций эмбриональных гемопоэтических клеток в комплексном лечении больных неспецифическим язвенным колитом // Вісник морської медицини.-2003. - № 2. - С. 287-291.

4. Smikodub A.I., Bushneva V. Application of Embryonic Stem Cells in Treatment of Patients with Non-specific Inflammatory Intestinal Diseases // Cytotherapy.-2003. - Vol. 5. № 5.-P.451-452.

5. Бушнева В.О., Смикодуб О.І. Особливості імунної відповіді організму на введення ембріональних гемопоетичних клітин хворим на неспецифічний виразковий коліт та хворобу Крона // Трансплантологія.-2004. - Т.7., № 3. - С 250-253.

6. Yakhin K.K., Abdulganieva D.I., Bodryagina E.S. Quality of life and psychological features patients with inflammatory bowel disease Портал Consilium Medicum: http://conmed.ru/magazines/psikhicheskie_rasstroystva_v_obshchey_medsine/psikhicheskie_rasstroystva_v_obshchey_medsine-02-2014/kachestvo_zhizni_i_kliniko_psikhologicheskie_osobennosti_patsientov_s_vospalitelnyimi_zabolevaniyami/

9. Князев О.В., Каграманова А.В., Болдырева О.Н., Фадеева Н.А., Жулина Е.Ю. и др. Применение мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в лечении больных с острой атакой язвенного колита. / Scientific Journal Science Rise, 2015, Т. 4, № 4(9), С.24-31.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб комплексного лікування неспецифічного виразкового коліту, який включає парентеральне введення біологічного матеріалу, що містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, який **відрізняється** тим, що як біологічний матеріал застосовують кріоконсервовані препарати з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього

клітин у вигляді розмороженої суспензії стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетусу людини 5-12 тижня гестації, при цьому основна суспензія містить стовбурові клітини з фетальної печінки з кількістю ядровмісних клітин не менше за $1,0 \times 10^6$ в 1 мл та відсотком живих клітин не менше 70 %, а щонайменше одна додаткова суспензія містить стовбурові клітини,

5

вибрані з групи, яка включає стовбурові клітини гемопоєзу селезінки, стовбурові нервові клітини мозку, стовбурові клітини з екстракту м'яких тканин, хоріону та суміші клітин щонайменше двох зазначених видів, причому основну суспензію вводять внутрішньовенно в об'ємі, не меншому ніж 0,1 мл, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять на фоні проведення загальноприйнятої терапії.

10

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що щонайменше одну додаткову суспензію вводять підшкірно та внутрішньом'язово.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що основну суспензію вводять внутрішньовенно крапельно на фоні 200 мл 0,9 % фізіологічного розчину натрію хлориду зі швидкістю 20-40 крапель за хвилину.

15

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед внутрішньовенним введенням основної суспензії додатково проводять премедикацію шляхом внутрішньовенного струминного введення 10 мг димедролу та 30 мг преднізолону.

5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин пацієнт додатково проходить повне загально-клінічне лабораторне обстеження, яке включає: загальний аналіз крові (визначення ШОЕ, числа еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів та тромбоцитів); загальний білок та білкові фракції, цукор крові, печінкові та ниркові проби, С-реактивний протеїн, копрограму, загальний аналіз сечі.

20

6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин пацієнт додатково проходить додаткові лабораторні обстеження, а саме: імунограму, визначення онкомаркерів.

25

7. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин проводять електрокардіографію.

8. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин проводять ультразвукове дослідження органів черевної порожнини.

30

9. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин проводять ендоскопічне дослідження товстої кишки (ректороманоскопія або сигмоїдоскопія з біопсією, або колоноскопія).

35

10. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що при неможливості виконання колоноскопії для встановлення протяжності ураження товстої кишки при ремісії захворювання рекомендують іригоскопію.

11. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин пацієнт додатково проходить комп'ютерну томографію з контрастуванням внутрішньовенно та перорально.

40

12. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин пацієнт додатково проходить магнітно-резонансну томографію з введенням контрасту та з додаванням метилцелюлози.

13. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що після проведення комплексного лікування неспецифічного виразкового коліту препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин спостерігають за активністю патологічного процесу за індивідуальним протоколом.

45

14. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що після проведення комплексного лікування неспецифічного виразкового коліту препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин в разі недосягнення клініко-лабораторної ремісії проводять повторний курс лікування препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин за індивідуальним протоколом.

50

15. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що після введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин обов'язковим є клінічне та лабораторне визначення ступеня активності запального процесу через 15, 30 днів, 3 місяці, а потім кожних наступних 3 місяці.

55

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601