



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114026** (13) **C2**
(51) МПК**A61K 35/34** (2015.01)**A61K 35/54** (2015.01)**A61P 31/12** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

- (21) Номер заявки: **а 2015 08391**
(22) Дата подання заявки: **26.08.2015**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **10.04.2017**
(41) Публікація відомостей про заявку: **27.02.2017, Бюл.№ 4**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.04.2017, Бюл.№ 7**

- (72) Винахідник(и):
Сич Наталія Сергіївна (UA),
Клунник Марія Олексіївна (UA),
Демчук Марія Петрівна (UA),
Матіящук Ірина Георгіївна (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)
- (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
UA 51575 A, 15.11.2002
Chiba T. et al. Successful clearance of hepatitis B virus after allogeneic stem cell transplantation: beneficial combination of adoptive immunity transfer and lamivudine / T. Chiba, O. Yokosuka, S. Goto, K. Fukai, F. Imazeki, H. Shishido, M. Narita, H. Saisho // European Journal of Haematology. - 2003. - Vol. 71. - P. 220-223
Hsiao L. T. et al. Hepatitis B infection in haematopoietic stem cell transplantation: still unresolved / L.T. Hsiao, T.J. Chiou, J.P. Gau, J.H. Liu, C.H. Tzeng, P.M. Chen // Hong Kong Medical Journal. - 03.09.2009. - Vol. 15. - № 3. - P. 42-44
Hoofnagle Jay H. Reactivation of Hepatitis B / Jay H. Hoofnagle // HEPATOLOGY. - 2009. - Vol. 49. - № 5. - P. 156-165
Cai. J. et al. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional hepatic cells / J. Cai, Y. Zhao, Y. Liu et al. // Hepatology. - 2007. - Vol. 45, № 5. - P. 1229-1239
Carpentier A. et al. Engrafted human stem cell-derived hepatocytes establish an infectious HCV murine model / Arnaud Carpentier, Abeba Tesfaye, Virginia Chu et al. // The Journal of Clinical Investigation. - 3 Nov. 2014. - Vol. 124. - № 11. - P. 4953-4964
RU 2272638 C1, 27.03.2004
RU 2283113 C2, 10.09.2006

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ВІРУСНОГО ГЕПАТИТУ В ПРЕПАРАТАМИ З МАТЕРІАЛУ ЕМБРІОФЕТАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ ТА ВИДІЛЕНИХ З НЬОГО КЛІТИН**(57) Реферат:**

Винахід стосується способу лікування хронічного вірусного гепатиту В, що включає приготування та введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених

UA 114026 C2

з нього клітин у вигляді суспензії, що містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, за яким виготовляють та вводять щонайменше два препарати у вигляді розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 6-13 тижня гестації, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, причому суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять внутрішньовенно в об'ємі, не меншому за 0,1 мл, з кількістю ядровмісних клітин не менше за $2,89 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин попередників сполучної тканини з м'яких тканин фетуса людини вводять підшкірно в об'ємі, не меншому за 0,5 мл, з кількістю клітин не менше за $1,52 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять одночасно з проведенням стандартної медикаментозної терапії, а перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки додатково виконують премедикацію.

Винахід належить до галузі медицини, а саме: до гепатології та клітинної терапії, та може бути використаний при лікуванні хронічного вірусного гепатиту В (ХВГВ) у дорослих, зокрема для лікування хворих на ХВГВ шляхом введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензій, що містять стовбурові клітини, зокрема стовбурові клітини з фетальної печінки та стовбурові клітини попередників сполучної

тканини з м'яких тканин фетуса людини на фоні стандартної терапії.

У всіх країнах хронічний гепатит В є серйозною медичною проблемою. За даними ВООЗ у світі нараховується близько 400 мільйонів людей, що мають ХВГВ. Вірусний гепатит В - це одна з основних причин хронічних захворювань печінки, цирозу і первинного раку печінки. Щорічно від захворювань, обумовлених ХВГВ у світі помирає близько 780 000 чоловік, таким чином, він є однією з десяти основних причин смертності у світі. Профілактика вірусного гепатиту В входить в національні програми здоров'я більшості країн [1, 2].

У 95 % дорослих гострий гепатит В закінчується одужанням, лише в 5 % випадків гепатит стає хронічним. Лікування хронічного гепатиту В може тривати все життя пацієнта.

Передача вірусу може відбуватися в результаті попадання інфікованої крові тільки на пошкоджену шкіру або слизові оболонки контактної особи. На відміну від гепатиту С, щоб уникнути інфікування вірусом гепатиту В необхідно пройти вакцинацію.

Першочерговим завданням лікування ХВГВ є досягнення кліренсу s-антигену, яке зазвичай прирівнюється до клінічного виліковування. Кліренс s-антигену визначає сприятливий клінічний прогноз, в тому числі зменшення частоти розвитку цирозу печінки і гепатоцелюлярної карциноми, збільшення виживання хворих [2].

В Женеві 12 березня 2015 року ВОЗ уперше розробив протокол по лікуванню і профілактиці вірусного гепатиту В, ключовими рекомендаціями якого є:

- Використання простих, неінвазивних тестів для визначення стадії захворювання печінки і визначення категорій людей, які потребують лікування. Віддається перевага Фіброскану. Для пацієнтів з обмеженими можливостями необхідно визначити індекс аспартатамінотрансфераза/тромбоцити.

- Перевага в лікуванні віддається пацієнтам з цирозом печінки.

- Використання двох безпечних та ефективних препаратів, тенофовіру (Віреад) і ентекавіру (Бараклюд). Препарати відрізняються доброю переносимістю, комплаєнтністю (одна таблетка на день), наявністю недорогих дженериків.

Пацієнти повинні регулярно проходити моніторинг на розвиток карциноми печінки, ефективності лікування та показань/протипоказань до терапії.

Противірусна терапія хронічного вірусного гепатиту В включає лікування зареєстрованими пегільованими інтерферонами (ІФН) (Пег-ІФН- α -2а, α -2b, ІФН- α -2а або α -2b короткої дії) - ламівудином, ентекавіром, телбівудином. При цьому у кожній групі противірусних препаратів є певні переваги і недоліки.

Пег-ІФН найбільш ефективні у пацієнтів з рівнем аланінамінотрансферази (АлАТ) у 2-3 рази вище норми, вираженим запаленням за даними морфологічного дослідження печінки і рівнем віремії менш 2×10^6 МО/мл. На результати лікування впливає генотип вірусу (найбільша ефективність - при генотипах А і В, найменша - при генотипі D, проте генотип вірусу має меншу доказову базу щодо успішності терапії в порівнянні з рівнем АлАТ і не може визначати вибір препарату для початку лікування). Перевагою інтерферонотерапії є повна відсутність генотипічної резистентності до неї, недоліками цієї терапії є широкий спектр протипоказань до лікування (у тому числі декомпенсований цироз печінки (ЦП)) і наявність ряду побічних ефектів.

Відмінними рисами сучасних нуклеозидних аналогів (ентекавіру і телбівудину) є висока частота зниження рівня ДНК HBV в крові нижче рівня чутливості тест-системи, через 48 тижнів терапії (швидке придушення реплікації HBV) - в 60-67 % випадків при HBe-позитивному гепатиті В і в 74-78 % при HBe-негативному гепатиті В, можливість застосування цих препаратів у хворих на цироз печінки. До недоліків даних препаратів можна віднести невизначену до теперішнього часу тривалість лікування HBe-негативного ХВГВ та можливість розвитку генотипічної резистентності та необхідність переходу на інші препарати (при цьому ризик розвитку резистентності вище в порівнянні з ризиком у хворих, які раніше не отримували лікування нуклеози(ти)дними аналогами, наприклад при переході з терапії ламівудином на ентекавір) або додавання до лікування ще одного препарату (комбінована терапія препаратами з групи нуклеозидних і групи нуклеотидних аналогів - тенофовір і ламівудин, тенофовір і ентекавір, тенофовір і телбівудин).

Відповідно до рекомендацій Європейської асоціації з вивчення печінки (EASL Clinical Practice Guidelines 2009 рік), показання для проведення противірусної терапії (ПВТ) ХВГВ базуються на комбінації трьох показників, що визначають прогресування захворювання:

- Рівень вірусного навантаження;
- Сироваткова активність АлАТ;
- Гістологічно (морфологічно) встановлений ступінь активності і стадія гепатиту.

Пацієнту рекомендується противірусна терапія при наявності наступних умов:

- 5 - Рівень ДНК HBV в крові більше 10 000 копій/мл (2000 МО/мл);
- Та/або активність АлАТ вище верхньої межі норми;
- За результатами ПБП (шкала METAVIR) діагностовано високу активність гепатиту та/або значно виражений фіброз A2 або F2 (METAVIR A2=Knodell≥6 балів і Ishak≥7 балів; METAVIR F2=Knodell і Ishak 3 бали).

- 10 Якщо недоступно дослідження рівня ДНК HBV в крові, але позитивний якісний аналіз на ДНК HBV, то основними критеріями призначення терапії повинні бути дані біопсії печінки, де виявлено активний некрозапальний процес (A2) та/або стадія фіброзу печінки 2 і вище (A2F2 і більше по METAVIR). Необхідно враховувати підвищення рівня АлАТ при відсутності інших, крім HBV-інфекції, причин для цього. Нормальні значення АлАТ при наявності фіброзу 2-3-й стадій і
- 15 позитивному тесті на ДНК HBV не є перешкодою для призначення ПБТ. При відсутності даних результатів гістологічної біопсії печінки і рівнів ДНК HBV призначення противірусного лікування недоцільно. Пацієнта слід направити для повного обстеження в медичні установи, що мають необхідні діагностичні можливості.

- 20 Основною метою терапії при HBe-позитивному ХВГВ є досягнення сероконверсії по HBeAg, невизначуваного сучасними методами рівня ДНК HBV в крові і нормалізація показників АлАТ.

Лікування HBeAg-позитивного хронічного вірусного гепатиту В можливо препаратами стандартного і пегілірованого інтерферону і аналогами нуклеозидів. Стандартний інтерферон застосовується в дозі 5 млн ОД щодня або 10 млн ОД через день протягом 16 тижнів.

- 25 Пег-ІФН використовується протягом 48 тижнів в стандартних дозах 1 раз на тиждень. При застосуванні пегільованих інтерферонів стійкої відповіді вдається досягти у 25-30 % пацієнтів. При відсутності відповіді на терапію або у разі рецидиву після її закінчення можливо тривале лікування нуклеозидними аналогами, переважно препаратом з високим генетичним бар'єром до резистентності - ентекавіру, так як при HBe-позитивному гепатиті, як правило, рівень віремії дуже високий.

- 30 Тривалість застосування нуклеозидних аналогів (ентекавір (бараклюд), телбівудін (Себіво), ламівудин (Зеффікс), тенофовір (Вірсад) при хронічному HBe-позитивному гепатиті В визначається HBe-статусом пацієнта на тлі терапії. У тому випадку, якщо вдалося досягти сероконверсії, після її настання рекомендується продовжити лікування (консолідуєча терапія) протягом 24-48 тижнів (48 тижнів переважно) і потім, якщо зберігається невизначений рівень віремії, можлива відміна противірусної терапії (ПБТ). Якщо сероконверсії не вдається досягти, але зберігається невизначений рівень віремії, лікування рекомендується продовжувати невизначено довго, оскільки відміна препарату може призвести до вірусологічного та біохімічного загострення.

- 40 Основною метою терапії при HBeAg-негативному хронічному вірусному гепатиті В є кліренс ДНК HBV і нормалізація активності АлАТ. Лікування можливе препаратами стандартного пегільованого інтерферону і аналогами нуклеози(ти)дів. Пег-ІФН і стандартний інтерферон застосовуються протягом 48 тижнів. Кратність застосування і дози аналогічні таким при HBeAg-позитивному ХГВ. При відсутності відповіді на терапію або у разі рецидиву після її закінчення можливо тривале лікування нуклеозидними аналогами (переважно препаратом з високим генетичним бар'єром до резистентності - ентекавіром).

- 45 Нуклеозидні аналоги - ентекавір, телбівудін або ламівудин. Тривалість лікування ними при HBeAg-негативному хронічному гепатиті В в даний час не визначена і можливі різні підходи:

- До настання кліренсу HBsAg (частота його становить в середньому 2-5 % протягом 2-4 років лікування).
- 50 - Довічна терапія (недоліки: висока вартість, побічні ефекти, ризик розвитку медикаментозної резистентності).
- Протягом 2-3 років після настання авіремії (при цьому зберігається ризик рецидиву захворювання, частота якого поки не встановлена).

Особливості лікування окремими групами препаратів:

- 55 Препарати інтерферону. Лікування пегінтерфероном-α2а (Пегасіс) проводять протягом 48 тижнів в дозі 180 мкг 1 раз на тиждень підшкірно.

Пегінтерферон-α2b (Пегінтрон®) вводять в дозі 0,5 або 1,0 мкг/кг 1 раз на тиждень протягом від 24 до 52 тижнів. Дозу вибирають з урахуванням передбачуваної ефективності та безпеки.

- 60 Лікування препаратами пегілірованого інтерферону до теперішнього часу демонструє максимальну частоту досягнення сероконверсії HBe/анти-HBe при HBe-позитивному гепатиті

(30 %), сероконверсії HBeAg/анти-HBe (3-4 %), стійкої вірусологічної відповіді (30 %) після відміни терапії в порівнянні з іншими групами препаратів при стандартній її тривалості 48 тижнів. Зниження рівня віремії в період лікування пегільованим інтерфероном вдається досягти у 25 % і 63 % хворих, нормалізації активності АлАТ відмічено у 38 % і 39 % хворих при HBe-позитивному і HBe-негативному ХВГВ відповідно, поліпшення показників гістології печінки - у 52 % і 48 % пацієнтів відповідно, які закінчили терапію через 48 тижнів.

Ламівудин (Зеффікс®). Лікування ламівудином проводять в дозі 100 мг щодня per os. Ламівудин характеризується хорошим профілем безпеки. У хворих HBe-позитивним ХВГВ вдається досягти сероконверсії HBeAg/анти-HBe в 16-18 % випадків протягом року терапії і в 27 % випадків при застосуванні цього препарату протягом 2 років. Поліпшення гістологічної картини зафіксовано незалежно від сероконверсії, приблизно у 50 % хворих вже через рік від початку лікування.

Комбінована терапія інтерфероном і ламівудином не показала переваг перед монотерапією пегільованими інтерферонами. Істотний недолік терапії ламівудином - висока ймовірність розвитку фенотипічної резистентності до препарату (24 і 39 % через 1 і 2 роки відповідно).

Ентекавір (Бараклюд®). Препарат призначають у дозі 0,5 мг щодня per os пацієнтам, які раніше не отримували аналоги нуклеозидів. При розвитку резистентності або рефрактерності до ламівудину або телбівудину лікування проводять в дозі 1,0 мг щодня. Ентекавір характеризується хорошим профілем безпеки, ефективно і швидко пригнічує реплікацію HBV протягом 48 тижнів лікування (67 і 90 % ефективності при HBe-позитивному і HBe-негативному ХВГВ відповідно). Частота досягнення нормалізації АлАТ становить відповідно 68 % і 78 %. Гістологічна відповідь при обох варіантах ХВГВ реєструється у 70-72 % пацієнтів вже через 48 тижнів лікування.

Частота сероконверсії HBe/анти-HBe через рік терапії - 21 %, але підвищується до 31 % при продовженні лікування до 2 років. Істотною перевагою ентекавіру служить низька ймовірність розвитку резистентності до лікування (1,2 % через 6 років терапії). Однак у пацієнтів, яким ентекавір призначений внаслідок, коли вже розвилася резистентність до ламівудину або телбівудину, ризик розвитку генотипічної резистентності до ентекавіру підвищується до 6 і 15 % через 1 і 2 роки терапії відповідно.

Телбівудин (Себіво®). Лікування проводять в дозі 600 мг щодня per os. Препарат характеризується хорошим профілем безпеки, ефективно пригнічує реплікацію HBV протягом 48 тижнів лікування (60 і 88 % ефективності при HBe-позитивному і HBe-негативному ХВГВ відповідно і більш ніж 70 % ефективності формування біохімічної ремісії при обох формах гепатиту). Гістологічна відповідь реєструється у 65-67 % пацієнтів при HBe-позитивному і HBe-негативному ХВГВ.

Частота сероконверсії HBe/анти-HBe через рік терапії - 23 %, але підвищується до 29,6 % при продовженні лікування до 2 років. Ризик розвитку резистентності до телбівудину істотно менше, ніж до ламівудину, але вище, ніж при лікуванні ентекавіру (4 і 17 % через 1 і 2 роки терапії відповідно).

Тенофовір. Лікування проводять в дозі 300 мг щодня per os. Дані про ефективність і безпеку тривалого застосування препарату накопичуються.

В теперішній час значна увага приділяється клітинній терапії для лікуванні хворих на ХВГВ та вона може стати оптимальним методом лікування при цьому захворюванні, оскільки клітинна терапія може сприяти регенерації гепатоцитів та збільшити проміжок часу до моменту трансплантації печінки. Клітинна суспензія містить різноманітні нейротрофічні фактори, які стимулюють роботу власних біологічно активних речовин у природних умовах. Стовбурові клітини здатні замінювати собою уражені клітини тканин печінки, що призводить до відновлення функцій печінки [3, 4]. Введені додатково стовбурові клітини потрапляють в зону загибелі гепатоцитів (клітин печінки) і замінюють уражені клітини печінки на здорові. Таким чином, нормалізуються відновні процеси в тканинах.

При закінченні лікування ХВГВ стовбуровими клітинами виявляється значне поліпшення біохімічних показників крові (альбуміну, загального білірубіну, АлАТ, аспартатамінотрансферази (АсАТ)). Оскільки інфекційні гепатити супроводжуються вираженою загальною слабкістю пацієнтів, після лікування стовбуровими клітинами слабкість зникає, відзначається збільшення сил і гарного самопочуття.

Після лікування ХВГВ стовбуровими клітинами антитіла до вірусу залишаються, але дуже важливо, що після лікування вірус гепатиту В знаходиться в печінці в неактивному стані.

Відомий спосіб лікування хворих на гострий вірусний гепатит В, що включає введення лаферону, циклоферону, антиоксидантів, глутаргіну та гепатозахисного препарату антрал (патент України на корисну модель № 34823, дата публікації - 26.08.2008 р. МПК: А61К31/00).

Недоліком відомого способу лікування гострого вірусного гепатиту В є недостатня регенерація гепатоцитів у печінці, що призводить до зниження ефективності лікування при збільшенні тривалості лікування та ймовірності розвитку хронічної форми гепатиту В.

Відомий спосіб лікування хронічних дифузних захворювань печінки і спосіб лікування цирозу і портальної гіпертензії, в якому виготовляють та вводять біотрансплантат у вигляді суспензії у фізіологічному розчині (патент Російської Федерації на винахід № 2368384, дата публікації - 27.09.2009, кл. МПК А61К35/407). Причому для лікування хронічних дифузних захворювань печінки кількість клітин біотрансплантата, що вводиться, складає 2-4 млн. клітин на 1 кг ваги хворого, а для лікування цирозу печінки сумарна кількість клітин біотрансплантата складає від 350 до 500 млн. Причому біотрансплантат містить змішану популяцію клітин, у якій 40 % складають стовбурові клітини, включаючи мезенхімальні і печіночні біпотентні стовбурові клітини, а решта 60 % - прогеніторні клітини у різній стадії диференціації, включаючи гепатоласти і клітини-попередники еритроїдного ряду, гемопоетичні клітини.

Недоліком способу є недостатня ефективність лікування захворювання печінки, викликаного саме вірусним гепатитом В.

Відомий спосіб лікування цирозу печінки, що включає введення суспензії клітин плода людини, до складу якої входять стовбурові клітини, під капсулу печінки на глибину 0,5-1,0 см під контролем апарату УЗД в кількості 200-300 млн. клітин і/або парентерально, зокрема, внутрішньовенно в кількості 1-1,5 млрд клітин (патент Російської Федерації на винахід № 2318526, дата публікації - 10.03.2008, кл. МПК А61К35/48). При комбінуванні зазначених способів введення загальна доза не повинна перевищувати 1,5 млрд клітин.

Недоліком відомого способу лікування цирозу печінки є недостатня ефективність лікування захворювання печінки, що викликане вірусним гепатитом В. Крім того, недоліком відомого способу є його складність при введенні стовбурових клітин під капсулу печінки.

Відомий спосіб лікування хронічних дифузних захворювань печінки, що включає використання гепатопротекторів і трансплантацію стовбурових клітин кісткового мозку (патент Російської Федерації на винахід № 2283113, дата публікації - 10.10.2006, кл. МПК А61К31/575). Причому використовують стовбурові клітини, безпосередньо виділені із аспірату кісткового мозку хворого, порцію яких розраховують таким чином, що кількість $CD34^{+}$ клітин в ній складає від 40 до 240×10^6 клітин, яку ділять на дві половини, першу з яких вводять внутрішньопечінково, а другу - внутрішньовенно.

Недоліком відомого способу є те, що внутрішньопечінкове введення суспензії є складним та травмуючим для хворого.

Відомий спосіб лікування хронічних дифузних захворювань печінки шляхом ін'єкційного введення суспензії фетальних тканин людини, в якому додатково вводять фетальні тканини у вигляді суспензії живих гепатоцитів у круглу зв'язку печінки (патент Російської Федерації на винахід № 2161036, дата публікації - 27.12.2000, кл. МПК А61К35/407).

Недоліком відомого способу є його складність та травматизм при введенні суспензії живих гепатоцитів у круглу зв'язку печінки. Крім того, недоліком відомого способу лікування є необхідність скорочення проміжку часу від отримання фетальних тканин у вигляді суспензії живих гепатоцитів до їх введення. Це пов'язано з тим, що з кожною хвилиною певна кількість клітин стає нежиттєздатною, що впливає на кінцевий ефект використання та необхідністю підтримки їх функціональної активності.

Найбільш близьким до способу лікування ХВГВ, що заявляється, є спосіб лікування хронічного гепатиту та цирозу печінки, що включає приготування та введення біотрансплантата у вигляді суспензії мезенхімальних стовбурових клітин чи фетальних гепатоцитів або їх комбінація у фізіологічному розчині з концентрацією клітинних елементів 1-15 млн клітин на 1 кг ваги хворого (патент Російської Федерації на винахід № 2272638, дата публікації - 27.03.2006, кл. МПК А61К35/407). Причому один біотрансплантат у вигляді суспензії в фізіологічному розчині містить культуру фетальних гепатоцитів людини із печінки ембріонів фетуса людини 1-2 триместру вагітності, селективно розмнужених в умовах культивування. Інший біотрансплантат у вигляді суспензії в фізіологічному розчині містить мезенхімальні стовбурові клітини (МСК), отримані із фетального, донорського чи аутологічного матеріалу шляхом дезагрегації тканини з наступним культивуванням на ростовому середовищі, яке містить трансферин, інсулін, фактор росту фібробластів і гепарин, до накопичення гомогенної клітинної культури з вмістом агреман- і колаген II експресуючих клітин не менше 80 %. При цьому як фетальний матеріал використовують тканини: кістковий мозок, тимус, печінка, жирова тканина ембріонів людини 1-го триместру вагітності.

Недоліком відомого способу лікування хронічного гепатиту та цирозу печінку є недостатнє відновлення функцій печінки саме при лікуванні ХВГВ. Крім того, недоліком відомого способу

лікування хронічного гепатиту та цирозу печінку є його складність, а саме необхідність культивування клітин та необхідність скорочення проміжку часу від отримання МСК з середовища, на якому культивують клітини, до їх введення, що обмежує його. Це пов'язано з тим, що з кожною хвилиною певна кількість клітин стає нежиттєздатною, що впливає на кінцевий ефект.

Задачею винаходу, що заявляється, є удосконалення способу лікування ХВГВ препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин, в якому за рахунок запропонованої послідовності проведення лікування з використанням розморожених після кріоконсервації суспензій стовбурових клітин емпірично підбраного складу, забезпечується підвищення ефективності лікування хворих на ХВГВ, зокрема, покращення функціонального стану хворого, стабілізація лабораторних показників при відновленні функцій печінки та попередженні розвитку ЦП і ГЦК без необхідності підбору донора за антигенами гістосумісності. В результаті - продовжується тривалість та якість життя, полегшуються симптоми хворих на ХВГВ, зменшується розмноження вірусу гепатиту В. Крім того, забезпечується запобігання виникнення алергійних реакцій хворих на ХВГВ при проведенні лікування.

Поставлена задача вирішується запропонованим способом лікування ХВГВ, що включає приготування та введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензії, що містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, в якій виготовляють та вводять щонайменше два препарати у вигляді розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 6-13 тижня гестації, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, причому після кріоконсервації суспензію стовбурових клітин з фетальної печінки вводять внутрішньовенно в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $2,89 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин попередників сполучної тканини з м'яких тканин фетуса людини вводять підшкірно в об'ємі не меншому за 0,5 мл з кількістю клітин не менше за $1,52 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять одночасно з проведенням стандартної медикаментозної терапії, а перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки додатково виконують премедикацію.

Як стандартну медикаментозну терапію призначають введення щонайменше одного препарату або комбінації препаратів, вибраних з групи: пегільованого інтерферону і аналоги нуклеозидів, ламівудину, ентекавіру, телбівудину, тенофовіру.

Суспензію розморожених після кріоконсервації стовбурових клітин з фетальної печінки, як правило, вводять разом із фізіологічним розчином натрію хлориду зі швидкістю 20-40 крапель за хвилину.

При цьому премедикацію виконують шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 30 мг преднізолону.

Перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, додатково виконують клінічне та інструментальне обстеження стану хворого.

Перед проведенням лікування та через 6 і 12 місяців після введення розмороженої суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, здійснюють контроль активності патологічного процесу за клінічними, лабораторними та інструментальними показниками.

Нами встановлено, що за рахунок введення принаймні двох суспензій емпірично підбраного складу, що містять стовбурові клітини ембріофетального походження, а саме внутрішньовенного введення суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки людини 6-13 тижня гестації в об'ємі, не меншому за 0,1 мл, з кількістю ядровмісних клітин не менше за $2,89 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення та підшкірного введення суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини 6-13 тижня гестації, в об'ємі, не меншому за 0,5 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $1,52 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, забезпечується стимуляція роботи власних біологічно активних речовин хворого у природних умовах за рахунок різноманітних нейротрофічних факторів, що виділяють стовбурові клітини, та забезпечується потрапляння оптимальної кількості стовбурових клітин в зону загибелі гепатоцитів, де стовбурові клітини активно розмножуються, в результаті чого відбувається регенерація патологічно змінених чи загиблих гепатоцитів печінки та заміщення стовбуровими клітинами уражених тканин печінки. Крім того, відбувається утворення та

проростання сітки нових кровоносних судин до ураженого органа, що створюють додатковий кровотік. Це призводить до відновлення кількості гепатоцитів та нормалізації відновних процесів в тканинах печінки і, як наслідок, - до поліпшення функцій печінки і попередження розвитку ЦП і ГЦК при зменшенні концентрації та швидкості розмноження вірусу гепатиту В. В результаті - покращується функціональний стан хворого на ХВГВ при стабілізації клініко-лабораторних показників без необхідності підбору донора за антигенами гістосумісності. При цьому продовжується тривалість та якість життя, полегшуються симптоми хворих на ХВГВ. Крім того, проведення премедикації перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки дозволяє запобігти виникненню алергійних реакцій хворих під час проведення лікування при хорошій переносимості лікування.

Використання саме фетальної печінки та попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, для отримання стовбурових клітин з метою приготування лікувальних препаратів у вигляді суспензій обумовлено їх пластичністю, зокрема, здатністю таких клітин зазнавати змін та диференціації у відповідь на навколишній вплив або відповідно до їх внутрішньої програми. Відомо, що клітини ембріофетального походження здатні до росту, розмноження, диференціації, міграції та встановлення зв'язків з іншими клітинами. Порівняно з клітинами зрілих тканин, вони мають кращу здатність до проліферації. Їх введення є ефективнішим також з огляду на утворення великої кількості ростових факторів. Клітини з фетальної печінки можуть виробляти значну кількість факторів росту, нейротрофічного фактора, цитокінів, інтерлейкінів, що сприяють виживанню та росту, проліферації, диференціації, та можуть стимулювати регенерацію за рахунок оточуючих клітин господаря.

Крім цього, клітини з фетальної печінки мають здатність виживати при нижчому рівні кисню, ніж їх повністю диференційовані аналоги, що робить їх більш стійкими до ішемічного ушкодження як під час маніпуляцій *in vitro*, так і після їх введення. Проліферуючі або незрілі клітини з фетальної печінки переважно не мають довгих відростків або сильної міжклітинної адгезії і тому зазнають менших пошкоджень під час приготування суспензії стовбурових клітин. Ці властивості дозволяють вводити стовбурові клітини з фетальної печінки шляхом внутрішньовенної ін'єкції у вигляді суспензії [3]. Ці характеристики можуть пояснити і підвищене виживання клітин і тканин фетальної печінки, в порівнянні з дорослими, після кріоконсервації.

Спосіб лікування ХВГВ препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин здійснюють таким чином.

Спочатку діагностують форму гепатиту і ступінь його активності шляхом:

1. Вивчення функціонального стану печінки (визначення активності АЛТ, АСТ, гамма-глутамінтранспептидази (ГГТ), вміст загального білка крові та його фракцій, значення тимолової і сулемової проб, В-ліпопротеїнів, холестерину, фібриногену, протромбінового індексу (ПТИ), активності лужної фосфатази (ЛФ), вміст загального та прямого білірубину в крові;

2. Визначення ДНК HBV в крові (за допомогою ПЛР якісним та кількісним методом) маркерів вірусного гепатиту;

3. Вивчення стану клітинного та гуморального імунітету;

4. Ультразвукове дослідження печінки та селезінки.

Далі виготовляють два препарати у вигляді суспензій кріоконсервованих стовбурових клітин, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини. Для цього в умовах операційної, з дотриманням правил асептики та антисептики, одержують ембріофетальний матеріал, а саме: тканину печінки, тканину попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини від 6 до 13 тижнів гестації, які загинули внаслідок медичного аборту в випадках, коли вагітність переривали за соціальними показниками при відсутності патології розвитку чи інфікованості фетуса та наявності інформованої згоди жінки. Вилучені тканини ембріофетального походження поміщають в стерильне транспортне середовище розчину Хенкса. В стерильних умовах тканини сепарують та гомогенізують в розчині Хенкса. Отримані суспензії піддають фільтрації та кріоконсервують. Як кріопротектор використовують диметилсульфоксид. Далі готові суспензії розливають в кріопробірки в об'ємі 0,1-1,0 мл. Кріоконсервування суспензій клітин проводять у камері програмного заморожування за розробленою програмою. Таке кріоконсервування забезпечує практично необмежене довгострокове зберігання вказаних суспензій, дозволяє протягом необхідного часу дослідити препарати у вигляді суспензії на бактеріологічну та вірусологічну безпеку, визначити якісні та кількісні показники суспензії, сформувані банк суспензій стовбурових клітин, відповідно до визначених вимог до препаратів. Суспензії, що містять стовбурові клітини з фетальної печінки та клітини з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, зберігають в кріобанку в рідкому азоті при температурі -196 °C.

При формуванні банку суспензій з тканин ембріофетального походження для лікування хворих на хронічний вірусний гепатит В, суспензія стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензія стовбурових клітин попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, повинні мати такі параметри: вміст ядровмісних клітин (підраховують загальну кількість ядровмісних клітин в одиниці об'єму за допомогою клітинного аналізатора чи візуально під мікроскопом в лічильній камері) повинен становити не менше ніж $2,89 \times 10^6$ в 1 мл суспензії для ядровмісних клітин з фетальної печінки та не менше за $1,52 \times 10^6$ в 1 мл суспензії для ядровмісних клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини; вміст живих клітин після кріоконсервування - не менше, ніж 90 %.

Пробірки, що містять суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, безпосередньо перед введенням виймають 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 розмороженої суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, при кімнатній температурі не повинен перевищувати 10 хвилин.

При цьому перед введенням вказаних суспензій здійснюють додатковий контроль якості суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, зокрема, проводять мікроскопію та здійснюють підрахунок кількості життєздатних клітин за допомогою автоматичного клітинного аналізатора чи візуально під мікроскопом в лічильній камері. Вміст живих клітин після кріоконсервування - не менше, ніж 90 %.

Перед початком проведення лікування хворих на хронічний ХВГВ шляхом введення розморожених після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, виконують терапевтичне, лабораторне та інструментальне обстеження стану хворого та здійснюють контроль активності патологічного процесу за клінічними та інструментальними показниками. Далі, перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки, з метою запобігання виникненню алергійних реакцій під час лікування, виконують премедикацію шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 30 мг преднізолону через систему для переливання крові. Після чого, разом із фізіологічним розчином натрію хлориду вводять розморожену суспензію стовбурових клітин з фетальної печінки шляхом внутрішньовенного введення зі швидкістю 20-40 крапель за хвилину. При цьому об'єм лікувальної дози суспензії для одного введення підбирають індивідуально, але не менше за 0,1 мл, з кількістю ядровмісних клітин, не меншою за $2,89 \times 10^6$ в 1 мл. Введення розмороженої суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, здійснюють підшкірно в об'ємі не меншому за 0,5 мл з кількістю ядровмісних клітин, не менше за $1,52 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення. Така кількість клітин забезпечує необхідну якість суспензій та достатня для отримання високої ефективності лікування ХВГВ.

Одночасно з введенням розморожених суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, проводять стандарту медикаментозну терапію, що включає введення щонайменше одного препарату або комбінації препаратів, вибраних з групи: пегілірованого інтерферону і аналогами нуклеозидів, ламівудину, ентекавіру, телбівудину, тенофовіру. При цьому схему стандартної медикаментозної терапії формують з урахування стадії, форми захворювання, віку пацієнта та супутньої патології.

Після введення розморожених після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, хворий знаходиться під спостереженням. Причому після проведення лікування через 6 і 12 місяців здійснюють контроль стану хворого за клінічними та інструментальними показниками. При цьому точки спостереження вибирають, згідно з протоколом клінічного застосування препарату з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин, розробленим на основі клінічного досвіду.

Ефективність лікування ХВГВ оцінюють за зменшенням клінічних скарг (нудоти, загальної слабкості, свербіжу шкіри, зниження апетиту), покращення лабораторних та інструментальних показників.

Так, з 2004 по 2014 роки у клініці клітинної терапії були проліковані 112 хворих на ХВГВ, відповідно до способу лікування ХВГВ, що заявляється. У всіх хворих спостерігався синдром

раннього післяінфузійного покращення: відбувалося поліпшення сну, покращився апетит, зменшився свербіж шкіри. Після проведеного введення суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки в жодному випадку не спостерігались ускладнення чи побічні явища, в тому числі реакція "трансплантат проти хазяїна" (РТПГ).

5 Винахід, що заявляється, пояснюється наступними прикладами хронічного вірусного гепатиту В.

Приклад 1. Пацієнт С., 49 років, історія хвороби № 321. Хворий знаходився в клініці клітинної терапії з метою лікування хронічного вірусного гепатиту В. Був прийнятий на стаціонарне лікування зі скаргами на слабкість, біль у правому підребер'ї, здуття живота, нестійке випорожнення. Також скаржився на підвищену стомлюваність, немотивовану слабкість, зниження працездатності, млявість. Хворіє близько 4 років, коли переніс гострий вірусний гепатит В. через 6 місяців після перенесеного гострого вірусного гепатиту В з'явилися болі в правому підребер'ї, нестійке випорожнення. В біохімічних аналізах крові визначили підвищений вміст ферментів печінки (АЛТ, АСТ, ГГТП).

15 Об'єктивно: стан задовільний, шкірні покриви і слизові з жовтяничним відтінком. Дихання везикулярне, хрипів не виявлено. Серцева діяльність ритмічна, тони приглушені. Перкуторно межі серця в межах норми. Живіт роздутий, при пальпації печінка виступає з-під правого підребер'я на 3 см по середньоключичній лінії, селезінка не пальпується. Сечовипускання в нормі, випорожнення - нестійке: то закрепи, то діарея.

20 При лабораторному обстеженні виявлено підвищений загальний білірубін до 32,8 моль/л за рахунок непрямого (29,6 моль/л) збільшення рівня АЛТ - 82 Од/л, АСТ-69 Од/л, зниження гемоглобіну до 79 г/л, і кількості еритроцитів $2,94 \times 10^{12}/л$, кольоровий показник на нижній межі норми (0,9), лейкопенія (лейкоцити $2,9 \times 10^9/л$), гепатомегалія (край печінки виступає за межі реберної дуги на 3 см, болючий). При перкусії виявлено значне збільшення розмірів печінки, спленомегалія. При ультразвуковому дослідженні печінки виявлено підвищення ехогенності печінки та збільшення її розмірів.

30 Перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки хворому була проведена премедикація шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 30 мг преднізолону. Введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки в об'ємі 2,7 мл шляхом внутрішньовенного крапельного введення. На другий день введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, підшкірно в об'ємі 4,8 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки: вік фетуса - 10 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин - $22,3 \times 10^6$ в 1 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з попередників сполучної тканини з м'яких тканин людського фетуса: вік фетуса - 10 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин - $8,31 \times 10^6$ в 1 мл.

35 У перші кілька днів після введення вказаних суспензій спостерігався синдром раннього післяінфузійного покращення, який проявлявся покращенням сну та апетиту, зменшенням болю в животі.

40 Через 6 місяців після вказаного лікування у пацієнта зменшився рівень загального білірубіну до 24,7 моль/л за рахунок непрямого (20,81 моль/л), АЛТ до 64 Од/л, АСТ до 50 Од/л, підвищився рівень гемоглобіну до 102 г/л, і кількості еритроцитів $3,93 \times 10^{12}/л$, кольоровий показник на нижній межі норми (0,9), лейкоцитів ($4,1 \times 10^9/л$). При ультразвуковому дослідженні печінки виявлено зменшення ехогенності печінки та зменшення її розмірів. Через 12 місяців після лікування рівень загального білірубіну становив 17,8 моль/л, непрямого білірубіну - 10,66 моль/л, гемоглобіну - 121 г/л, еритроцитів - $4,38 \times 10^{12}/л$, лейкоцитів $4,34 \times 10^9/л$.

Також хворий відчув і покращення клінічних симптомів: поява апетиту, збільшення енергії, працездатності, нормалізувалося випорожнення.

50 Приклад 2. Пацієнт С., 54 роки, історія хвороби № 521 знаходився в клініці клітинної терапії з метою лікування хронічного персистуючого вірусного гепатиту В (HBsAg позитивний). Скаржиться на жовтушність шкірних покривів, слабкість, біль у правому підребер'ї, здуття живота.

55 Хворіє близько 5 років. Лікувався амбулаторно. Останнім часом з'явилася жовтяниця, біль у правому підребер'ї, здуття живота.

60 Об'єктивно: стан задовільний, іктеричність шкірних покривів верхньої половини тулуба, "судинні зірочки" на тілі, пульс 68 ударів на хвилину, ритмічний. Перкуторно над легеньми ясний легеневий звук, при аускультатії - дихання везикулярне, хрипів не виявлено. Живіт правильної форми, дещо роздутий, пальпується збільшена печінка, нижній край якої виходить з-під реберної дуги на 3 см по середній ключичній лінії. Селезінка не збільшена.

В біохімічному аналізі крові знайдені такі відхилення: білірубін - 27,5 мкмоль/л, АЛТ - 128 од/л, АСТ-87 од/л, лужна фосфатаза (ЛФ) - 254 МО/л. HBsAg (+++), ДНК HBV (+). Маркери інших вірусних гепатитів не виявлені.

При ультразвуковому дослідженні печінки виявлено підвищення ехогенності печінки та збільшення її розмірів.

Перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки хворому була проведена премедикація шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 30 мг преднізолону. Введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки в об'ємі 3,7 мл шляхом внутрішньовенного крапельного введення. На другий день введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з попередників сполучної тканини з м'яких тканин фетуса людини підшкірно в об'ємі 4,5 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки: вік фетуса - 8 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин - $18,8 \times 10^6$ в 1 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з попередників сполучної тканини з м'яких тканин людського фетуса: вік фетуса - 8 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин - $6,9 \times 10^6$ в 1 мл.

У перші кілька днів після введення вказаних суспензій спостерігався синдром раннього післяінфузійного покращення, який проявлявся покращенням сну та апетиту, став більш бадьоріший, покращився колір шкіри, не турбує здуття шлунка.

Через 6 місяців після вказаного лікування у пацієнта зменшився рівень загального білірубіну до 19,2 моль/л, АЛТ - 92 Од/л, АСТ-61 Од/л, лужна фосфатаза (ЛФ) - 174 МО/л. При ультразвуковому дослідженні печінки виявлено зменшення ехогенності печінки та зменшення її розмірів. Через 12 місяців після лікування рівень загального білірубіну становив 17,9 моль/л, АЛТ - 52 Од/л, АСТ-38 Од/л, лужна фосфатаза (ЛФ) - 98 МО/л.

Також хворий відчув покращення апетиту, збільшення енергії, працездатності.

Отже, запропонований спосіб лікування ХВГВ препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин дозволяє підвищити ефективність лікування хворих на ХВГВ, зокрема, покращити функціональний стан хворого, стабілізувати лабораторні показники та відновити функції при зменшенні симптомів прогресування захворювання без необхідності підбору донора за антигенами гістосумісності. В результаті - продовжується тривалість та якість життя, полегшуються симптоми хворих на ХВГВ.

Джерела інформації:

1. Серов В.В., Апросина З.Г. Хронический вирусный гепатит, 2004 г.
2. Ющук Н.Д., Климова Е.А., Знойко О.О., Кареткина Г.Н., Максимов С.Л., Маев И.В. Вирусные гепатиты: клиника, диагностика, лечение, 2014 г.
3. Chen et al. Trophic factors counteract elevated FGF-2-induced inhibition of adult neurogenesis // Neurobiology of Aging. - 2007. - 28 (8). - 1148-62.
4. Raymond Liang How I treat and monitor viral hepatitis B infection in patients receiving intensive immunosuppressive therapies or undergoing hematopoietic stem cell transplantation // Blood. - April 2. - 2009. - 113-114.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб лікування хронічного вірусного гепатиту В, що включає приготування та введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензії, що містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, який **відрізняється** тим, що виготовляють та вводять щонайменше два препарати у вигляді розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 6-13 тижня гестації, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини попередників сполучної тканини, отриманих з м'яких тканин фетуса людини, причому суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять внутрішньовенно в об'ємі, не меншому за 0,1 мл, з кількістю ядровмісних клітин не менше за $2,89 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин попередників сполучної тканини з м'яких тканин фетуса людини вводять підшкірно в об'ємі, не меншому за 0,5 мл, з кількістю клітин не менше за $1,52 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять одночасно з проведенням стандартної медикаментозної терапії, а перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки додатково виконують премедикацію.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як стандартну медикаментозну терапію призначають введення щонайменше одного препарату або комбінації препаратів, вибраних з

групи: пегільованого інтерферону і аналогів нуклеозидів, ламівудину, ентекавіру, телбівудину, тенофовіру.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять разом із фізіологічним розчином натрію хлориду зі швидкістю 20-40 крапель за хвилину.

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що премедикацію виконують шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 30 мг преднізолону.

5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з попередників сполучної тканини з м'яких тканин фетуса людини додатково виконують терапевтичне та інструментальне обстеження стану хворого.

6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед проведенням лікування та через 6 і 12 місяців після введення розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та розмороженої після кріоконсервації суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з попередників сполучної тканини з м'яких тканин фетуса людини здійснюють контроль активності патологічного процесу за клінічними та інструментальними показниками.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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