



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 59678

(13) A

(51) 7 A61K35/54

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ

1

2

(21) 2002119088

(22) 15 11 2002

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.

(72) Смікодуб Олександр Іванович, Демчук Марія
Петрівна(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ(57) Спосіб лікування ревматоїдного артриту, який
включає загальноприйнятну терапію і, в разі недо-
сягнення позитивної реакції чи її непереносимості,
трансплантацію суспензії криоконсервованих сто-
вбурових клітин, який відрізняється тим, що пе-
ред трансплантацією проводять внутрішньовенну
премедикацію - 10 мг димедролу і 30 мг

преднізолону, для трансплантації використовують
стовбурові клітини печінки трупа ембріона людини
4-8 тижневої гестації, при цьому суспензію
криоконсервованих стовбурових клітин вводять
внутрішньовенно в об'єм, не меншому за 0,1 мл, з
кількістю клітин, що містять ядра, не меншою за
 $0,1 \times 10^8$ /мл, і вмістом прогеніторних клітин CD34
від 1 до 20×10^6 /мл, в подальшому - через 15, 30
днів, а потім кожних 3 місяці - контролюють ак-
тивність патологічного процесу за клінічними та
лабораторними показниками, і при збереженні
рівня активності захворювання чи його підвищенні,
але не раніше, ніж через 2 тижні, трансплантацію
стовбурових клітин повторюють клітинами того ж
зразка

Винахід, що заявляється відноситься до ме-
дицини, а саме до внутрішніх хвороб, і призначе-
ний для лікування ревматоїдного артриту

Ревматоїдний артрит (РА) - це системне запал-
не захворювання сполучної тканини з прогресую-
чим ураженням периферичних (синовіальних)
суглобів за типом симетричного прогресуючого
ерозивно-деструктивного поліартриту, що супро-
воджується утворенням аутоантитіл (ревматоїдних
факторів) в крові

При РА зміни відбуваються перш за все в си-
новіальній оболонці суглобів. Запальний процес в
тканинах починається з інфільтрації синовіальної
оболонки лімфоцитами - T_4 хелперами. Саме ці
інфільтруючі Т-клітини здійснюють місцеву проду-
кцію лімфокінів. Оскільки, Т-лімфоцити продукують
різноманітні цитокіни, які сприяють проліферації В-
клітин та їх диференціації в клітини, які утворюють
антитіла, активізація Т-клітин сприяє стимуляції В-
лімфоцитів у вогнищі ураження, тобто місцево.
Внаслідок цього утворюються імуноглобуліни та
ревматоїдний фактор, які можуть формувати імун-
ні комплекси з наступною активізацією комплемен-
ту та загостренням запального процесу за рахунок
утворення анафілатоксинів та фактору хемотакси-
су. Імунорегуляторні порушення при РА виража-
ються в суттєвому зниженні, в порівнянні з нор-
мою, рівня Т-супресорів. Хвороба, починаючись з

суглобового синдрому, поступово набуває рис
системності з'являються ревматоїдні вузли, лім-
фаденопатія, ураження внутрішніх органів

Специфічного лікування РА немає. Всі лікува-
льні заходи паліативні і спрямовані на послаблен-
ня проявів хвороби. Основними задачами лікуван-
ня є неспецифічне пригнічення запального
процесу, попередження прогресування пошко-
джень суглобових структур, збереження їх ціліс-
ності та функції, досягнення більш стійкої ремісії у
хворих на РА за рахунок зменшення активності
запального процесу і відновлення функції ураже-
них суглобів, корекція порушень імунного статусу.
Існують два напрямки медикаментозного лікування
РА. Перший передбачає застосування нестероїд-
них протизапальних препаратів (НПЗП), а, при
необхідності, і невеликих доз глюкокортикостерої-
дів (ГКС) для зменшення проявів місцевих запаль-
них процесів. Вказані препарати діють швидко,
зменшуючи вираженість симптомів поліартриту,
але їх вплив на перебіг самого захворювання не-
значний. Другий напрямок - це використання засо-
бів, модифікуючих саме перебіг захворювання
(цитотоксичних імуносупресивних препаратів).
Вони здатні вплинути на перебіг РА і сповільнити
його прогресування. Саме цей напрямок став ба-
зисним у лікуванні РА.

Однак, ефективність базисних препаратів зни-

(13) A

(11) 59678

(19) UA

жується в міру прогресування захворювання. Частота ремісії при базисній терапії у хворих з важким прогресуючим перебігом РА складає всього 13%, а при багаторічній системній терапії базисними засобами - 32%. Проте, враховуючи токсичність препаратів, індивідуальну непереносимість, виражені побічні ефекти при застосуванні цих препаратів, у багатьох випадках лікування припиняється вимушено без досягнення клінічного ефекту. Частота і тяжкість ускладнень при такому лікуванні надто значні, що зумовило пошук альтернативних способів лікування.

Так, відомий спосіб лікування РА [1], який включає проведення аlogenної трансплантації кісткового мозку (ТКМ). Безпосередньо ТКМ передує стадія лікування, яку називають кондиціонуванням і яка полягає в повному знищенні гемопоетичної та імунної систем пацієнта. Донором може бути будь-яка людина, яка сумісна за системою HLA (антигенами гістосумісності). Сама процедура ТКМ дуже складна. Вона розтягнута в часі на декілька місяців і включає підбір сумісного донора, проведення індивідуально підбраного режиму кондиціонування, інфузію реципієнту клітинного концентрату, боротьбу з ранніми (перші 3 місяці) та пізніми ускладненнями (може затягуватись на декілька років). Режим кондиціонування перед трансплантацією включає преднізолон 100мг в день, циклофосфамід 50мг/кг внутрішньовенно 4 дні, наступні 48 годин тотальне опромінення в дозі 400Гр. Процедура трансплантації полягає в інфузії клітинного концентрату через широкий в/в катетер. Для профілактики гострої реакції "трансплантат проти хазяїна" (ТПХ) в 1 день після трансплантації вводять метотрексат внутрішньовенно в дозі 15мг/м² і 10мг/м² на 3 та 6 день після ТКМ та 100мг/день преднізолону.

Перевага цього способу в порівнянні з загальноприйнятим лікуванням РА полягає в досягненні більш тривалої ремісії РА. Відомі випадки відсутності прогресування хвороби впродовж 13 років. Недоліком такого способу лікування РА, який включає алогенну ТКМ, є можливе виникнення ускладнень, яке пов'язане з застосуванням режимів кондиціонування (ураження всіх внутрішніх органів, приєднання інфекції, тромбоемболія - це зумовлюється високою дозою рентгеновського опромінення, застосуванням циклофосфаміду) та виникненням реакції ТПХ. Протягом першого місяця після ТКМ 11% хворих на РА помирають через зв'язані з нею ускладнення. До того ж тільки 25% хворих можуть розраховувати на алогенну ТКМ, оскільки у 75% пацієнтів немає гістосумісного донора.

Найближчим аналогом (прототипом) способу, що заявляється є спосіб лікування РА з використанням аутологічної трансплантації стовбурових клітин кісткового мозку [2]. Джерелом стовбурових клітин є власний кістковий мозок хворого. Відмінність цього способу лікування від попереднього в тому, що він не вимагає підбору донора, ідентичного за антигенами гістосумісності. Проводять забір власних стовбурових клітин кісткового мозку пацієнта з наступним їх криоконсервуванням. Спосіб застосовують після того, як хворий тривалий час приймав загальноприйняту терапію метотрек-

сат в дозі 25мг/тиждень, сульфасалазин і гідроксихлорохін в середніх терапевтичних дозах, ГКС в дозі 50мг/день, НПЗП в максимальній добовій дозі, але не вдалося досягти ні покращання загального стану, ні ремісії. Перед проведенням власне аутологічної ТКМ застосовують наступну схему кондиціонування: циклофосфамід 50мг/кг внутрішньовенно протягом 4-х днів (загальна доза 200мг/кг), дексаметазон 8мг щоденно, тропісетрон 5мг щоденно, а також ацикловір і флуконазол з профілактичною метою.

Позитивний результат такого лікування полягає в зменшенні клінічних проявів захворювання, покращанні лабораторних показників, зменшенні добової дози ГКС та анальгетиків, зростанні функціональних можливостей. Однак недоліками цього методу залишається виникнення тяжких ускладнень (таких як і при алогенній ТКМ), які у 2-4% випадків призводять до смерті і найчастіше є наслідком кондиціонування. Повторне введення аутологічних стовбурових клітин є імунологічно обмеженим.

Таким чином, трансплантація стовбурових клітин при РА, особливо аутологічних, забезпечує певне зменшення частоти ускладнень при збільшенні тривалості ремісії у порівнянні з загальноприйнятим лікуванням. Проте частота ускладнень залишається високою, що зумовлюється проведенням жорсткого режиму кондиціонування перед власною трансплантацією стовбурових клітин.

Задача, яку вирішує винахід, що заявляється, полягає в підвищенні ефективності лікування РА за рахунок уникнення такої травмуючої стадії лікування, як кондиціонування, а також в збільшенні функціональних можливостей хворих після лікування шляхом уникнення необхідності підбору донора за антигенами гістосумісності та можливості повторного введення стовбурових клітин.

Технічний результат буде полягати в збільшенні стійкості ремісії та зниженні частоти ускладнень, а також в збільшенні функціональних можливостей хворих після лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі лікування ревматоїдного артриту, який включає загальноприйняту терапію і, в разі недосагнення позитивної реакції чи її непереносимості, трансплантацію суспензії криоконсервованих стовбурових клітин, згідно винаходу, для трансплантації використовують стовбурові клітини печінки тупа ембріону людини 4-8 тижневої гестації, при цьому суспензію криоконсервованих стовбурових клітин вводять в об'єм, не меншому за 0,1мл, з кількістю клітин, що містять ядра, не меншою за $0,1 \times 10^8$ /мл, і вмістом прогеніторних клітин CD34 від 1 до 20×10^6 /мл, в подальшому - через 15, 30 днів, а потім кожних 3 місяці - контролюють активність патологічного процесу за клінічними та лабораторними показниками і при збереженні рівня активності захворювання чи його підвищенні, але не раніше, ніж через 2 тижні трансплантацію стовбурових клітин повторюють клітинами того ж зразка.

Відмінною особливістю запропонованого способу є використання для трансплантації суспензії криоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки людини 4-8 тижневої гестації в пев-

ній дозі, що містить певну кількість клітин з ядрами та певну кількість прогениторних клітин CD34. Це дозволяє уникнути такої травмуючої стадії лікування, як кондиціювання, розширити показання до лікування (усувається потреба в підборі донора за антигенами гістосумісності) та дає можливість вводити стовбурові клітини повторно, за рахунок чого досягається підвищення ефективності лікування РА. З відомих літературних джерел такий спосіб лікування РА не відомий.

Спосіб лікування РА, що заявляється, здійснюється наступним чином:

Перед проведенням лікування обов'язковим є клінічне та лабораторне визначення ступеня активності патологічного процесу в балах (I - мінімальний (1-6 балів), II - середній (7-12 балів), III - високий (13-18 балів), відсутність активності - 0 балів), який оцінюють за тривалістю ранкової скутості (0 балів - нема, 1 бал - до 30хв, 2 бали - до 12 год дня, 3 бали - протягом дня), за проявами плейтеремії та синовіту (0 балів - нема, 1 бал - мінімальні прояви, 2 бали - помірні прояви, 3 бали - виражений синовіт), за вмістом альфа-2-глобулінів (до 10% - 0 балів, до 12% - 1 бал, до 15% - 2 бали, більше 15% - 3 бали), за ШОЕ (до 12мм/год - 0 балів, до 20мм/год - 1 бал, до 40мм/год - 2 бали, більше 40мм/год - 3 бали) та за кількістю С-реактивного протеїну (не визначається - 0 балів, 1+ - 1 бал, 2+ - 2 бали, 3+ та більше - 3 бали).

Спочатку хворому на РА призначають загальноприйнятну терапію, яка передбачає комбіноване застосування метотрексату, сульфасалазину, гідроксихлорохіну у поєднанні з НПЗП та ГКС. Курс загальноприйнятної терапії - 2-4 місяці.

Метотрексат - цитостатик, антагоніст фолієвої кислоти, впливає на гуморальний та клітинний імунітет. Призначають в дозі 7,5мг один раз на тиждень. Дозу ділять на три прийоми по 2,5мг з інтервалом 12 годин.

Гідроксихлорохін - протималарійний препарат, має гальмівну дію на синтез нуклеїнових кислот, активність деяких ферментів, імунологічні процеси. Призначають по 0,25г один раз на добу.

Сульфасалазин - протимікробний препарат. Механізм дії сульфаніламідних препаратів при РА до кінця не в'яснений. Призначають по 0,5г 3-4 рази на добу.

НПЗП (індометацин, диклофенак, ортофен) в середньодобовій дозі 150-200мг/добу, чи інші препарати в еквівалентних дозах. Протизапальна та анальгетична дія НПЗП пов'язана з гальмуванням синтезу прозапальних простагландинів.

ГКС (середня добова доза 7,5-15мг, у важких випадках до 60мг) пригнічують фагоцитоз та міграцію нейтрофілів у вогнище запалення, мають виражений імунодепресантний ефект, блокують продукцію антитіл та аутоантитіл при РА.

В разі недосягнення терапевтичного ефекту (через 2-4 місяці після початку лікування не спостерігається ні вираженого пригнічення імунних, лабораторних та клінічних проявів захворювання, ні сповільнення темпів суглобової деструкції, відсутні ознаки покращання і ремісії) чи вимушеного припинення лікування в зв'язку з індивідуальною непереносимістю проводять трансплантацію суспензії криоконсервованих стовбурових клітин ем-

бріональної печінки людини.

Доцільність вибору ембріональної печінки в якості джерела стовбурових клітин ґрунтується на здатності цих клітин зазнавати змін та диференціації у відповідь на оточуючий вплив або відповідно їх внутрішній програмі. Ця "пластичність" включає в себе ріст, розмноження, міграцію та встановлення зв'язків з іншими клітинами. Така пластичність поступово зникає і, як правило, губиться більшістю тканин до кінця розвитку плоду. В цілому ембріональні клітини діляться частіше та швидше, ніж клітини зрілих тканин. Їх імплантація є більш ефективною також з огляду на утворення великої кількості ростових центрів. Ембріональні клітини можуть виробляти значну кількість різних речовин, таких як ангіогенний і нейротрофічний фактори, які можуть сприяти виживанню та росту, або можуть прискорювати регенерацію за рахунок оточуючих клітин хазяїна. При пересадці всього 3-5% клітин від об'єму відповідного органа вони можуть повністю забезпечити його функцію. Багато ембріональних клітин мають здатність виживати при більш низькому рівні кисню, ніж їх повністю диференційовані аналоги, що робить їх більш стійкими до ішемічного ушкодження як під час маніпуляцій *in vitro*, так і після трансплантації. Проліферуючі або незрілі клітини плода переважно не мають довгих відростків або сильної міжклітинної адгезії і, таким чином, менше зазнають травматизації під час приготування суспензії окремих клітин. Ці властивості дозволяють трансплантувати ембріональні тканини шляхом ін'єкції клітинної суспензії. Ці характеристики можуть пояснити і підвищене виживання ембріональних клітин і тканин в порівнянні з дорослими після криоконсервування. Ембріональна печінка є концентрованим джерелом гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК). Особлива перевага ембріональної печінки як джерела ГСК полягає в імунологічній незрілості цієї тканини.

Загальна методика приготування суспензії криоконсервованих стовбурових ембріональних клітин печінки.

Ембріони отримують при штучному перериванні вагітності у здорових жінок, які до цього були обстежені на наявність вірусних та гемічних інфекцій. Пренатальна діагностика включає тестування на сифіліс, HbsAg, ВІЛ-інфекцію. Повторна діагностика донора на ВІЛ-інфекцію проводиться через 90-100 днів після абортів.

Використовують трупи ембріонів терміном гестації від 4 до 8 тижнів (з 4 тижня гестації відбувається закладка печінки, після 8 тижня гестації - фетальний період розвитку плода і клітини органів втрачають властивості, які нас цікавлять). Ембріон переносять в стерильну посудину з розчином Хенкса та антибіотика. Далі робота проводиться в стерильних умовах боксу. Ембріони переносять в стерильні чашки Петрі, які заповнені розчином Хенкса з антибіотиком, де обережно розкривають черевну порожнину і виймають печінку.

Орган переносять в гомогенізатор, розрізують на невеликі фрагменти та подрібнюють до отримання однорідної маси. Клітини змивають зі стінок та товчачки гомогенізатора розчином Хенкса в мірні пробірки, пропускаючи через фільтр для переливання крові, а потім через голки чимраз мен-

шого діаметру

Приготовлену клітинну суспензію, яка містить стовбурові клітини, клітинний баласт, продукти життєдіяльності клітин, розливають в поліетиленові пробірки об'ємом 0,3-0,5-0,7мл, додають кріопротектор і проводять кріоконсервацію (кріоконсервація забезпечує тривале зберігання клітинної суспензії - за складом та клінічною ефективністю вона практично не відрізняється від свіжо приготованої суспензії, дозволяє протягом необхідного часу провести дослідження для визначення інфікованості донора та взяття від нього клітин) за програмою, яка забезпечує високу функціональну активність клітин. Як кріопротектор використовують диметилсульфоксид. Готову клітинну суспензію досліджують на бактеріальну стерильність, наявність вірусних та паразитарних інфекцій (Enzygnost Anti-HIV1/-HIV2, HbsAg, Anti-HBc, Anti-CMV/IgG +IgM, Anti-Rubella Virus/IgG, Varicella/Zoster, Toxoplasmosis/IgG, IgM).

При формуванні банку ембріональної тканини для лікування хворих на РА клітинна суспензія повинна мати наступні параметри: вміст клітин з ядрами (підраховують загальну кількість клітин, які містять ядра, в одиниці об'єму за допомогою клітинного аналізатора чи візуально під мікроскопом в лічильній камері) має становити не менш ніж $0,1 \times 10^8$ /мл суспензії, вміст прогениторних клітин CD34 (визначають методом непрямого імуофлуоресцентного тесту з моноклональними антитілами) має складати від 1 до 20×10^6 /мл суспензії, вміст живих клітин після кріоконсервування - 70%. Клітинні суспензії зберігаються в банку ембріональних тканин в рідкому азоті при температурі -196°C.

Методика введення суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки

Контейнери з суспензією, що містить стовбурові клітини, безпосередньо перед трансплантацією виймають з рідкого азоту, занурюють у водяну баню при 40°C і витримують до появи рідкої фази. Подальші маніпуляції проводять при кімнатній температурі з суворим дотриманням правил асептики. Час перебування розмороженого матеріалу при кімнатній температурі не повинен перевищувати 2 год.

Після внутрішньовенної премедикації - 10мг димедролу і 30мг преднізолону через систему для переливання крові - на фоні фізіологічного розчину вводять суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин. Об'єм лікувальної дози підбирається індивідуально, але він не має бути меншим за 0,1мл. Введення доз, менших за 0,1мл, є технічно важким, оскільки частина клітин завжди залишається у флаконах, трубках, голках. Спираючись на клінічний досвід, можна стверджувати, що збільшення дози не має прямого зв'язку з вираженістю та стійкістю лікувального ефекту. Вважається недоцільним вводити більше ніж 3,0мл суспензії стовбурових клітин. Однак, застосовується і введення великих доз. Вони резервуються для випадків, коли введення ембріональної клітинної суспензії повинно забезпечити якомога більшу вираженість першої фази клітинної терапії. Це доведено тривалими спостереженнями за пацієнтами (тобто об'єм вважається пасивною характерис-

тикою суспензії). Кількість клітин, що містять ядра, в об'ємі клітинної суспензії, що вводиться, має бути не меншою ніж $0,1 \times 10^8$ /мл (вищеописаний спосіб приготування клітинної суспензії забезпечує кількість клітин на вказаному рівні, і цей рівень є мінімально достатнім для досягнення клінічного ефекту). Вміст прогениторних клітин CD34 в об'ємі клітинної суспензії, що вводиться, має складати від 1 до 20×10^6 /мл (зазвичай така кількість забезпечує якість суспензії, та їх достатньо для отримання клінічного ефекту). Швидкість в в введення становить 20-40 крапель за хвилину.

На наступних етапах лікування (при збереженні рівня активності захворювання чи його підвищенні, але не раніше, ніж через 2 тижні, протягом яких відбувається приживлення клітин та відновлення гемопоєзу) повторно трансплантиють клітинну суспензію того самого ембріону, який був використаний першого разу (таким чином уникають комбінованої алогенної імунної травми, формують простий химеризм). Саме для цього клітинну суспензію, отриману з одного ембріону, розливають в декілька контейнерів і зберігають в кріобанку для певного пацієнта.

Після проведення трансплантації хворий знаходиться під спостереженням. Обов'язковим є клінічне та лабораторне визначення ступеня активності процесу через 15 та 30 днів після лікування, а потім кожних наступних 3 місяці. Точки спостереження вибрані згідно протоколу трансплантації ЕКС, розробленого на основі клінічного досвіду. При проведенні повторної трансплантації (у випадках, коли рівень активності патологічного процесу зберігається або підвищується) всі дослідження проводять так само, як і при первинній.

Ефективність лікування оцінюють за зменшенням ступеня активності захворювання, збільшенням функціональних можливостей, зменшенням необхідної добової дози ГКС та НПЗП. Віддалені результати лікування оцінюють шляхом рентгенологічного підтвердження зворотних змін в суглобах.

Приклади конкретного втілення винаходу

Приклад 1. Хвора К., віком 41 рік з 30.01.95р по 4.02.95р знаходилась на лікуванні в 1-му терапевтичному відділенні ЦРКЛ Залізничного району м. Києва з діагнозом: Ревматоїдний артрит, поліартрит, активність III ступеня, суглобово-вісцеральна форма, повільно-прогресуючий перебіг, серопозитивний, Ro III-IV стадія, ФНС III ступеня.

При поступленні скарги на сильні болі в великих і дрібних суглобах верхніх та нижніх кінцівок, повну скутість рухів, практично протягом усієї доби, зниження ваги тіла, появу трофічних розладів шкіри в крижовій ділянці та на обох сідницях, поганий апетит, сон, постійну субфебрильну температуру. Тривалість захворювання 11 років. За цей період хворий були проведені неодноразові курси лікування препаратами золота, далагілом, метотрексатом, тімаліном, контрикалом, левамизолом. Лікування цими препаратами було припинено через виникнення алергічних реакцій. Протягом тривалого періоду хвора приймала преднізолон в дозі 30мг на добу та індометацин 150-200мг на добу.

При первинному огляді в клініці хвора була

повністю нерухомою, були відсутні як активні так і пасивні рухи, легкий дотик до тіла викликав сильний біль, спостерігалась виражена гіпотрофія м'язів кінцівок, здебільшого в ділянці обох кистей та стегон, в крижовій ділянці та на обох сідницях пролежні, субфебрильна температура, деформація суглобів обох кистей, колінних, гомілково-ступневих, різкий набряк колінних суглобів

Оскільки загальноприйнята терапія хворій вже проводилась і спостерігалась непереносимість медикаментів, то призначили тільки ГКС (преднізолон) 30мг на добу та індометацин (з групи НПЗП) по 50мг 4 рази на добу

2 02 95р після внутрішньовенної премедикації - 10мг димедролу і 30мг преднізолону струменево - провели внутрішньовенне крапельно трансплантацію криоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки людини (зразок 3038С175), вік ембріону 8 тижнів гестації, об'єм введеної суспензії 1,8мл, кількість клітин, що містять ядра

59х10⁶/мл, кількість CD34 2,3х10⁶/мл (вказані параметри клітинної суспензії визначені емпірично з того розрахунку, що вони можуть бути уточнені за реакцією на першу трансплантацію). Об'єм трансплантованих клітин від загальної маси тканини даного зразка, який знаходився в банку криоконсервованих тканин (для повторних трансплантацій), склав 10%

Трансплантацію хвора перенесла задовільно. В першу добу спостерігався синдром раннього посттрансплантаційного покращання зменшилась слабкість, покращився сон, появився апетит. Хвора продовжувала приймати 30мг преднізолону та 6 таблеток (150мг) індометацину на добу. Ознаки активності запального процесу поступово зменшувались: повна нерухомість змінилась ранковою скутістю протягом 30 хвилин після пробудження, гіпертермія, синовіт до кінця першого року спостереження не виявлялись. Критерії активності наведені в таблиці 1

Таблиця 1

	До лікування	Після лікування					
		15 днів	30 днів	3 м-ці	6 м-ців	9 м-ців	12 м-ців
Ранкова скутість, бали	3	3	2	2	2	1	1
Гіпертермія, бали	0	1	0	0	0	0	0
Синовіт, бали	3	2	1	0	0	0	0
ШОЕ, мм/год	38 (2-бали)	26 (2-бали)	20 (1-бал)	18 (1-бал)	15 (1-бал)	16 (1-бал)	10 (0-бал)
С-реактивний протеїн	+++ (3-бали)	++ (2-бали)	++ (2-бали)	++ (1-бал)	++ (1-бал)	++ (0-бал)	++ (0-бал)
Альфа-2-глобуліни, %	18 (3-бали)	15 (2-бали)	14 (2-бали)	13 (2-бали)	12 (2-бали)	12 (2-бали)	12 (2-бали)
Активність процесу як сума балів	17 висока	11 середня	8 середня	6 мінімальна	6 мінімальна	4 мінімальна	3 мінімальна

Як видно з таблиці, після проведеної трансплантації ступінь активності запального процесу зменшився з 17 до 3 балів, тобто став мінімальним. Окрім зменшення активності запального процесу, зросли функціональні можливості пацієнтки. Поступово почали відновлюватись пасивні рухи в суглобах. Через 2 місяці після трансплантації хвора могла самостійно тримати в руках ложку, робила спроби нею їсти. Через рік хвора могла самостійно рухатись в ліжку, сидати, користуватись ложкою, зменшився біль та скутість рухів в суглобах, об'єм рухів в верхніх кінцівках склав - 60-70% від об'єму рухів здорової людини.

При рентгенологічному обстеженні в динаміці на 2000р - анкілози не утворились, кістки заповнились. Рентгенологічно ознаки деформуючого артрозу III ступеня.

Приклад 2. Хворий К. 1939р народження з 4 12 96р знаходиться під спостереженням Клініки клітинної терапії Національного медуніверситету з діагнозом Ревматоїдний артрит, поліартрит, III ст активності, переважно суглобова форма, серопозитивний, Ro II-III стадія, ФНС II-III ступеня.

Пацієнт звернувся з скаргами на скутість рухів в суглобах верхніх та нижніх кінцівок, яка не зникла протягом дня, різкий біль та набряк в ділянці правого колінного суглоба, помірну болючість в дрібних та великих суглобах верхніх і нижніх кінці-

вок, повну втрату працездатності, нездатність до самообслуговування, підвищення температури тіла до 38°C. Попршення самопочуття тривало 3 місяці. Перші два місяці практично не лікувався. Протягом останнього місяця знаходився на стаціонарному лікуванні та, незважаючи на прийом великої кількості медикаментів, покращання стану не наступало.

При огляді звертали на себе увагу набряки обох кистей, здебільшого правої, гіперемія та дефігурація II і V пальця та II і V п'ясно-фалангового суглоба правої кисті, виражена пальпаторна болючість, різке обмеження функції обох кистей. З боку колінних суглобів - праве коліно в 2 рази збільшене в розмірах в порівнянні з лівим, шкірні покриви над суглобом гіперемовані, гарячі на дотик, активні та пасивні рухи неможливі. Гомілково-ступневі суглоби та стопи набрякли, рухи обмежені, болючі.

Пацієнту призначили метилпреднізолон 4 таблетки на добу та НПЗП ортофен по 2 таб 3 рази на день. Через тиждень 30 12 96р після внутрішньовенної премедикації - 10мг димедролу і 30мг преднізолону струменево внутрішньовенно крапельно провели трансплантацію суспензії криоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки людини в об'ємі 2,5мл. Характеристика суспензії зразок 3038К245, вік ембріону 6 тижнів,

кількість клітин, що містять ядра, $12,46 \times 10^6$ /мл, кількість CD34 $3,4 \times 10^6$ /мл (вказані параметри клітинної суспензії визначені емпірично з того розрахунку, що вони можуть бути уточнені за реакцією на першу трансплантацію) Протягом першої доби після проведеної трансплантації спостерігався синдром раннього посттрансплантаційного покра-

щання, поступово зникли болі та скованість рухів і через 2 тижні пацієнт приступив до роботи Глюкокортикоїдна терапія була відмінена протягом 2,5 місяців, потреби в прийомі НПЗП не було Оцінка ступеня активності запального процесу наведена в таблиці 2

Таблиця 2

	До лікування	Після лікування					
		15 днів	30 днів	3 м-ці	6 м-ців	9 м-ців	12 м-ців
Ранкова скутість, бали	3	1	1	0	0	0	0
Гіпертермія, бали	3	1	0	0	0	0	0
Синовіт, бали	2	1	0	0	0	0	0
ШОЕ, мм/год	48 (3 бали)	25 (2 бали)	12 (0 бали)	10 (0 бал)	3 (0 бал)	5 (0 бал)	10 (0 бал)
С-реактивний білок	+++ (3 бали)	++ (2 бали)	+	+	-	-	-
Альфа-2-глобуліни, %	17 (3 бали)	14 (2 бали)	13 (2 бали)	12 (1 бал)	10 (0 бал)	9 (0 бал)	8 (0 бал)
Активність процесу як сума балів	17 висока	9 середня	4 мінімальна	2 мінімальна	0 нема	0 нема	0 нема

Як видно з таблиці 2, активність запального процесу знизилась з 17 до 0 балів Через 6 місяців після трансплантації активність захворювання не визначалась

Приклад 3 Хвора К, 1949р н знаходиться під спостереженням в Клініці клітинної терапії Національного медуніверситету з початку 2000 року з діагнозом Ревматоїдний артрит, поліартрит III ст активності, серопозитивний, Ro III-IV стадія, ФНС II-III ступеня Синдром Рейно Вважає себе хворою з 1991 року Захворіла раптово, протягом декількох годин з'явилися болі та набряклість практично у всіх суглобах Спочатку захворювання приймала високі дози ГКС, НПЗП, сульфасалазин З 1997 року приймала метотрексат в дозі 7,5мг 1 раз на тиждень Періодично спостерігаються наднирникові кризи За цей період лікування зберігався середній ступінь активності запального процес (знижити його не вдавалось), функціональна недостатність суглобів зросла

При первинному огляді з боку суглобів правий плечовий суглоб деформований, набряклий, при пальпації болючий, обидві кисті деформовані, бурсит в ділянці обох зап'ястків, атрофія міжостних м'язів, колінні суглоби деформовані, дещо припухлі, помірна пальпаторна болючість, обидві стопи деформовані, виражений набряк гомілково-ступневих суглобів, бурсит таранно-плюсневих з'єднань Активність запального процесу визначалась сумою в 12 балів (динаміка активності наведена в табл 3) Хвора припинила прийом метотрексату, і на фоні терапії НПЗП (ортофен)

100мг/добу, ГКС (преднізолон) 10мг/добу після внутрішньовенної премедикації - 10мг димедролу і 30мг преднізолону струменево внутрішньовенно крапельно провели трансплантацію суспензії криоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки людини в об'ємі 3,0мл Характеристика клітинної суспензії зразок 3038A313, вік ембріону 5 тижнів, кількість клітин, які містять ядра - 50×10^6 /мл, кількість CD34 $2,1 \times 10^6$ /мл (вказані параметри клітинної суспензії визначені емпірично з того розрахунку, що вони можуть бути уточнені за реакцією на першу трансплантацію) Протягом перших кількох діб спостерігався синдром раннього посттрансплантаційного покращання, який проявлявся збільшенням фізичної та розумової активності, зменшенням тривалості ранкової скованості, покращанням сну, апетиту Протягом 3-х місяців після трансплантації спостерігалось значне покращання загального стану, збільшення об'єму рухів в кистях, змогла зменшити дозу ортофену Однак через 4 місяці загальний стан хворої дещо погіршився більш інтенсивними стали болі в суглобах, активність запального процесу зросла до 10 балів Було збільшено дозу ортофену до 150мг/добу і через 6 місяців після першої проведено повторну трансплантацію суспензії криоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки людини того ж самого зразка в меншому об'ємі 0,4мл, достатньому (з досвіду) для того, щоб підсилити ефект першої трансплантації та знизити активність запального процесу Зміна активності запального процесу наведена в табл 4

Таблиця 3

	До лікування	Після лікування		
		15 днів	30 днів	3 м-ці
Ранкова скованість, бали	2	2	2	1
Гіпертермія, бали	2	1	1	0
Синовіт, бали	3	2	1	1
ШОЕ, мм/год	14 (1 бали)	20 (2 бали)	4 (0 бали)	6 (0 бал)
С-реактивний білок	++ (2 бали)	+ (1 бали)	+ (1 бал)	(0 бал)
Альфа-2-глобуліни, %	15 (2 бали)	11 (1 бал)	13 (2 бали)	10 (0 бал)
Активність процесу як сума балів	12 середня	9 середня	7 середня	2 мінімальна

Таблиця 4

	перед II трансплантацією	Після II трансплантації					
		15 днів	30 днів	3 м-ці	6 м-ців	9 м-ців	12 м-ців
Ранкова скованість, бали	1	1	1	1	1	1	1
Гіпертермія, бали	2	1	0	0	0	0	0
Синовіт, бали	2	1	1	0	0	0	0
ШОЕ, мм/год	22 (2 бали)	14 (1 бали)	4 (0 бали)	6 (0 бал)	8 (0 бал)	3 (0 бал)	5 (0 бал)
С-реактивний білок	++ (2 бали)	+ (1 бал)	(0 бал)	(0 бал)	(0 бал)	(0 бал)	(0 бал)
Альфа-2-глобуліни, %	12 (1 бали)	10 (0 бал)	9 (0 бал)	12 (1 бал)	9 (0 бал)	9 (0 бал)	8 (0 бал)
Активність процесу як сума балів	10 середня	5 середня	2 мінімальна	2 мінімальна	1 мінімальна	1 мінімальна	1 мінімальна

Протягом перших кількох діб після повторної трансплантації спостерігався синдром раннього посттрансплантацийного покращання, який проявлявся зменшенням загальної слабкості, збільшенням працездатності, зменшенням тривалості ранкової скутості, покращанням сну, апетиту. Як видно з таблиці 3а, активність запального процесу з 10 балів (середній ступінь) зменшилась до мінімального ступеня - 1 бал.

З 1995 до 2000 року в Клініці клітинної терапії Національного медуніверситету на базі МКЛ №4 м. Києва за запропонованим способом було проліковано 26 хворих на РА. У всіх пацієнтів спостерігався синдром раннього посттрансплантацийного покращання у вигляді збільшення фізичної та розумової активності, зменшення тривалості ранкової скутості, покращання сну, апетиту. Поступово знижувалась активність захворювання за клінічними та лабораторними показниками запального процесу (дані наведені в таблиці), в жодному з випадків не спостерігались ускладнення чи побічна дія як внаслідок прийому ГК та НПЗП так і в процесі чи після проведення трансплантації су-

спензії криоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки людини. У всіх випадках вдалося знизити дозу ГК (в окремих випадках зникла потреба в їх прийомі) та НПЗП, не було потреби в додатковому застосуванні анальгетиків. В жодному з випадків не спостерігалась реакція ТПХ як при первинному, так і при повторному введенні криоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки людини. Отже, результати лікування РА запропонованим способом виявились кращими ніж у прототипі, де спостерігались такі тяжкі ускладнення, як ураження всіх внутрішніх органів, приєднання інфекції, тромбоземорагі - які у 2-4% випадків призводять до смерті і найчастіше є наслідком кондиціювання. Крім того, повторне введення аутологічних стовбурових клітин в собі-прототипі є імунологічно обмеженим. Результати спостереження за активністю РА протягом року в 26 пацієнтів, яким проводилась трансплантація суспензії криоконсервованих стовбурових клітин ембріональної печінки людини, наведені в таблиці.

Таблиця 5

Показники активності патол процесу	До лікування	Після лікування					
		15 днів	30 днів	3 м-ці	6 м-ців	9 м-ців	12 м-ців
N=26		Оцінка в балах					
Ранкова скованість	3	3	2	1	1	1	1
Гіпертермія	2	2	2	1	0	0	0
Синовіт	2	1	0	0	0	0	0
ШОЕ, мм/год	2	2	2	1	1	0	0
С-реактивний білок	3	2	2	1	1	0	0
Альфа-2-глобуліни, %	2	2	2	2	2	2	2
Сума	14	12	10	6	5	3	3

*I-мінімальний ступінь (1-6 балів), II - середній (7-12 балів), III - високий (13-18 балів), відсутність активності - 0 балів

Як видно з таблиці 4, активність запального процесу, в середньому, зменшилась з 14 до 3-х балів або на 78,6%, що можна розцінити як позитивний ефект від проведеного лікування

Література

1 Snowden J A , Kearney P , Cooley H M et al Long-term outcome of autoimmune disease following allogeneic bone marrow transplantation // Arthritis & Rheumatism - 1998 - Vol 41 №3 - P 453-459

2 Joske D J , Ma D T , Langlands D R, Owen E T Autologous bone-marrow transplantation for rheumatoid arthritis // Lancet - 1997 - Vol 350 №2 - P 337-338