



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.13.3.016>

УДК 616.345-002.44-08-035:602.9-032:616.136.46/5



Воробей А.В., Дыбов О.Г.¹✉, Зафранская М.М.¹, Шулейко А.Ч.¹, Адамович А.Ю.¹,
Старостин А.М.¹, Нижегородова Д.Б.¹, Бут-Гусаим Г.В.¹, Грико С.М.², Бочко В.Н.²,
Казловский А.А.²

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Минская областная клиническая больница, Минск, Беларусь

Селективная инфузия в брыжеечные артерии аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в лечении язвенного колита

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: литературный обзор, концепция и дизайн исследования – Воробей А.В., Дыбов О.Г., Адамович А.Ю., Нижегородова Д.Б., Старостин А.М., Зафранская М.М.; курирование пациентов и сбор данных – Дыбов О.Г., Бут-Гусаим Г.В., Бочко В.Н., Грико С.М., Казловский А.А.; анализ полученных результатов, написание текста – Воробей А.В., Дыбов О.Г., Бочко В.Н., Грико С.М., Казловский А.А., Бут-Гусаим Г.В.; редактирование текста – Воробей А.В., Зафранская М.М., Дыбов О.Г., Адамович А.Ю., Нижегородова Д.Б., Шулейко А.Ч.; выделение и культивирование ММСК – Адамович А.Ю., Нижегородова М.М., Зафранская М.М.

Подана: 06.05.2024

Принята: 16.08.2024

Контакты: alehdybau@gmail.com

Резюме

Введение. Язвенный колит – хроническое воспалительное заболевание с первичным поражением слизистой прямой кишки и различным по протяженности ободочной, которое характеризуется непрерывным или рецидивирующим течением. В настоящее время при рефрактерной форме язвенного колита перспективным является применение аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. При этом селективный путь доставки биомедицинского клеточного продукта в мезентериальное артериальное русло к пораженным клеткам толстой кишки в отличие от внутривенного и местного фактически не изучен.

Цель. Оценить безопасность и терапевтическую эффективность однократной селективной инфузии в брыжеечные артерии биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при лечении язвенного колита.

Материалы и методы. В ангиографическом отделении УЗ «Минская областная клиническая больница» выполнили селективную инфузию в устья брыжеечных артерий биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток ТУ ВУ 100185131.002-2022 четырем пациентам с язвенным колитом.

Результаты. По клиническим признакам (частота стула, ректальное кровотечение, эндоскопическая оценка слизистой, активность заболевания), суммарному баллу шкалы Мейо, уровню лабораторных маркеров воспаления в течение первого месяца после инфузии биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток у всех пациентов отмечена положительная динамика.

Заключение. Селективная инфузия в брыжеечные артерии биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток не имела непосредственных осложнений и позволила достигнуть и поддержать клиническую ремиссию, отсрочить хирургическое вмешательство, лучше подготовить пациента и выполнить операцию в плановом порядке.

Ключевые слова: язвенный колит, биомедицинский клеточный продукт, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, селективная инфузия, брыжеечные артерии, иммунотерапия

Varabei A., Dybau A.¹✉, Zafranskaya M.¹, Shuleiko A.¹, Adamovich H.¹, Starastin A.¹, Nizheharodava D.¹, But-Husaim H.¹, Hryko S.², Bachko U.², Kazlouski A.²

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Minsk Regional Clinical Hospital, Minsk, Belarus

Selective Infusion into the Mesenteric Arteries of Autologous Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in the Treatment of Ulcerative Colitis

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: literature review, concept and research design – Varabei A. Dybau A., Adamovich H., Nizheharodava D., Starastin A. Zafranskaya M.; patient supervision and data collection – Dybau A., But-Husaim H., Bachko U., Hryko S., Kazlouski A.; analysis of the results obtained, writing the text – Varabei A., Dybau A., Bachko U., Hryko S., Kazlouski A., But-Husaim H.; text editing – Varabei A., Zafranskaya M., Dybau A., Adamovich H., Nizheharodava D., Shuleiko A.; isolation and cultivation of MMSC – Adamovich H., Nizheharodava D., Zafranskaya M.

Submitted: 06.05.2024

Accepted: 16.08.2024

Contacts: alehdybau@gmail.com

Abstract

Introduction. Ulcerative colitis is a chronic inflammatory disease with a primary lesion of the rectal mucosa and varying in extent of the colon, which is characterized by a continuous or recurrent course. Currently, in the refractory form of ulcerative colitis, the use of autologous multipotent mesenchymal stromal cells is promising. At the same time, the selective route of delivery of a biomedical cellular product into the mesenteric arterial bed to the affected cells of the colon, in contrast to intravenous and local delivery, has not been virtually studied.

Purpose. To evaluate the safety and therapeutic efficacy of a single selective infusion into the mesenteric arteries of a biomedical cell product based on autologous multipotent mesenchymal stromal cells in the treatment of ulcerative colitis.

Materials and methods. In the angiographic department of the Minsk Regional Clinical Hospital, a selective infusion of a biomedical cell product based on autologous multipotent mesenchymal stromal cells, TU BY 100185131.002-2022, was performed into the orifices of the mesenteric arteries into four patients with ulcerative colitis.

Results. According to clinical signs (stool frequency, rectal bleeding, endoscopic assessment of the mucous membrane, disease activity), total Mayo scale score, level of laboratory markers of inflammation during the first month after infusion of a biomedical



cell product based on autologous multipotent mesenchymal stromal cells, positive dynamics were noted in all patients.

Conclusion. Selective infusion into the mesenteric arteries of a biomedical cell product based on autologous multipotent mesenchymal stromal cells had no immediate complications and made it possible to achieve and maintain clinical remission; delay surgery; It is better to prepare the patient and perform the operation as planned.

Keywords: ulcerative colitis, biomedical cell product, multipotent mesenchymal stromal cells, selective infusion, mesenteric arteries, immunotherapy

■ ВВЕДЕНИЕ

Язвенный колит (ЯК) – хроническое идиопатическое воспалительное заболевание с первичным поражением прямой кишки и различным по протяженности поражением ободочной, которое характеризуется непрерывным или рецидивирующим течением [1, 2]. ЯК способен клинически протекать от бессимптомного легкого воспаления до распространенного поражения толстой кишки. Клиническая картина заболевания включает в себя частые боли в животе, тенезмы, жидкий стул с кровью или без, системные внекишечные проявления [3, 4]. Распространенность ЯК составляет 286 человек на 100 000 в США, а в Европе – 505 : 100 000. Заболеваемость на Северо-Американском континенте оценивается в 23 человека на 100 000, в Европе – 57 : 100 000 [1, 5]. В Республике Беларусь показатель распространенности ЯК составляет 36,4 : 100 000, заболеваемости – 5,5 : 100 000. Ежегодно регистрируют около 400 новых пациентов с ЯК [6].

В настоящее время в лечении рефрактерных форм ЯК наиболее актуальны исследования по применению клеточных технологий. Общемировой опыт включения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в алгоритмы медикаментозной терапии пациентов с ЯК начал формироваться еще в 90-е гг. прошлого века. Так, в 1997–1999 гг. в Германии проведено клиническое исследование, в рамках которого произведена внутривенная инфузия аллогенных стволовых клеток 11 пациентам (7 с болезнью Крона и 4 с ЯК). К 2013 г. опубликовано три клинических исследования применения биомедицинского клеточного продукта (БМКП) на основе стволовых клеток у пациентов с ЯК [7]. С 2010 по 2017 г. было проведено 7 клинических исследований с применением ММСК у пациентов с установленным диагнозом ЯК (n=216). В двух из них введение ММСК проводили местно (в подслизистый слой толстой кишки) во время тотальной колоноскопии, в трех – выполняли внутривенную инфузию, в остальных исследованиях способ введения не был указан [8].

В Беларуси изучение терапевтических возможностей БМКП на основе мезенхимальных стволовых клеток началось в 2006 г. в рамках государственных программ фундаментальных исследований Министерства здравоохранения Республики Беларусь. Реализация программ включала 3 этапа:

- 1) 2006–2010 гг.: получение БМКП на основе ММСК в достаточной терапевтической дозе (1,0–2,0 млн клеток / 1 кг веса пациента), стандартизация клеточного продукта и его безопасность;
- 2) 2011–2015 гг.: разработка методов клинического применения БМКП и государственное регулирование его оборота в Беларуси;

3) с 2015 г. и по настоящее время: расширение спектра заболеваний и работа над включением применения БМКП в клинические протоколы лечения пациентов. Важным является то, что в Беларуси БМКП юридически не классифицирован как лекарственное средство, что позволяет избежать излишнего экспериментального этапа исследования и проводить клинические испытания на ограниченном количестве пациентов (I/II фаза) [9].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить безопасность и терапевтическую эффективность однократной селективной инфузии в брыжеечные артерии БМКП на основе аутологичных ММСК при лечении ЯК.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленной цели в условиях ангиографического отделения УЗ «Минская областная клиническая больница» четверем пациентам с ЯК выполнили селективную инфузию в устья брыжеечных артерий БМКП на основе аутологичных ММСК.

Критерии включения и исключения

В настоящем клиническом исследовании установлены следующие критерии включения: взрослые пациенты (возраст ≥18 лет); непрерывное течение ЯК с левосторонним, субтотальным или тотальным поражением при неэффективности адекватной консервативной терапии; осложнения консервативной терапии (лейкопения, агранулоцитоз, тромбоцитопения; стероидозависимость и резистентность; резистентность к биологической терапии); плохая индивидуальная переносимость показанных при ЯК лекарственных средств; поддержание достигнутой медикаментозной терапией устойчивой ремиссии; ЯК с внекишечными проявлениями. Критериями исключения были: 1) состояния, требующие экстренного оперативного лечения: токсическая дилатация ободочной кишки, ее перфорации или профузное толстокишечное кровотечение;

Таблица 1
Пациенты исследуемой группы
Table 1
Patients of the study group

Пациент		Длительность анамнеза ЯК (лет)	Протяженность поражения ЯК	Показания к применению БМКП аутологичных ММСК
№	Пол			
I	м	1	левостороннее	■ тяжелое непрерывное течение ■ неэффективность медикаментозной терапии
II	ж	4	субтотальное	■ тяжелое непрерывное течение ■ неэффективность медикаментозной терапии ■ лейкопения при приеме азатиоприна
III	м	7	субтотальное	■ рецидив ЯК в слепой кишке через 1 год после дистальной субтотальной колэктомии (СКЭ) и мезоректумэктомии, петлевой илеостомии ■ стероидозависимость; ■ агранулоцитоз ■ тромбоцитопения
IV	ж	2	тотальное	■ тяжелое непрерывное течение ■ неэффективность медикаментозной терапии



- 2) угроза развития малигнизации;
- 3) наличие новообразований;
- 4) некомпенсируемая анемия;
- 5) тяжелая сопутствующая патология;
- 6) высокий риск развития осложнений во время или после применения БМКП на основе аутологичных ММСК из-за возраста, аллергологического анамнеза или иных факторов;
- 7) тяжелая инфекция и сепсис.

Все пациенты исследуемой группы соответствовали указанным критериям (табл. 1).

Инфузия БМКП на основе аутологичных ММСК

У всех четырех пациентов после получения информированного согласия осуществляли взятие биологического материала (красный костный мозг) из подвздошной кости в количестве 40–50 мл. БМКП ММСК получали на базе отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории экспериментальной и клинической медицины учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (ТУ ВУ 100185131.002-2022). Предоперационно проводили подготовку согласно общепринятым стандартам (обсуждали с пациентом задачи и ход инфузии БМКП, ее возможные риски и осложнения, наличие лучевой нагрузки, оформляли информированное согласие на инвазивное вмешательство; выполняли обработку зоны хирургического доступа). Хирургическое вмешательство проводили в ангиографическом отделении под местной инфильтрационной анестезией. Пунктировали периферическую артерию по Сельдингеру в типичной точке (общая бедренная или плечевая артерии). Далее через брюшную аорту селективно катетеризировали верхнюю брыжеечную (ВБА) и/или нижнюю брыжеечную (НБА) артерии с последующим их контрастированием для оценки проходимости и архитектоники мезентериального бассейна (рис. 1).

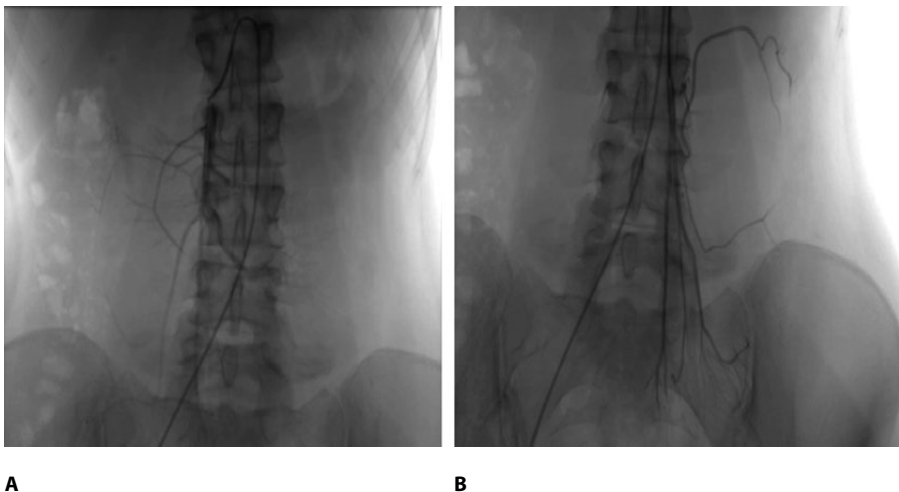


Рис. 1. Мезентерикография с последующей инфузией БМКП пациенту II: А – верхняя, В – нижняя
Fig. 1. Mesentericography followed by infusion of MMSCs into the patient II: А – top, В – bottom

Таблица 2

Объемы и пути инфузий БМКП аутологичных ММСК в сосудистое русло пациентов с ЯК

Table 2

Volumes and routes of administration of autologous MMSCs into the vascular bed of patients with complicated UC

№	Количество вводимых ММСК	Протяженность поражения ЯК	Сосудистый бассейн для доставки ММСК
I	3,0×10 ⁷	левостороннее	НБА
II	4,8×10 ⁷	субтотальное	НБА + ВБА
III	2,8×10 ⁷	субтотальное*	ВБА
IV	5,0×10 ⁷	тотальное	НБА + ВБА

Примечание: * пациенту ранее по поводу ЯК была произведена дистальная СКЗ и мезоректумэктомия с петлевой илеостомой и асцендоанальным анастомозом.

Выбор мезентериального бассейна для инфузии зависел от протяженности поражения толстой кишки, а количество вводимых БМКП каждому пациенту – от количества культивированных аутологичных ММСК (табл. 2).

После чрескатетерного введения нефракционированного гепарина (50 ЕД/кг массы тела) вводили БМКП ММСК в 25 мл физиологического раствора со скоростью около 5 мл/мин. По окончании инфузии в катетер повторно вводили 20 мл физиологического раствора; выполняли контрольную ангиографию для оценки проходимости артериального мезентериального русла; извлекали катетеры и интродьюсеры; выполняли локальный гемостаз зоны пункции (механическая компрессия); накладывали асептическую повязку.

Период наблюдения за пациентами после однократной инфузии БМКП составил 12 месяцев. Оценку его терапевтической эффективности производили по результатам клинико-лабораторных методов исследования, опросников SF-36 v.2 и индивидуального ежедневника (рис. 2).

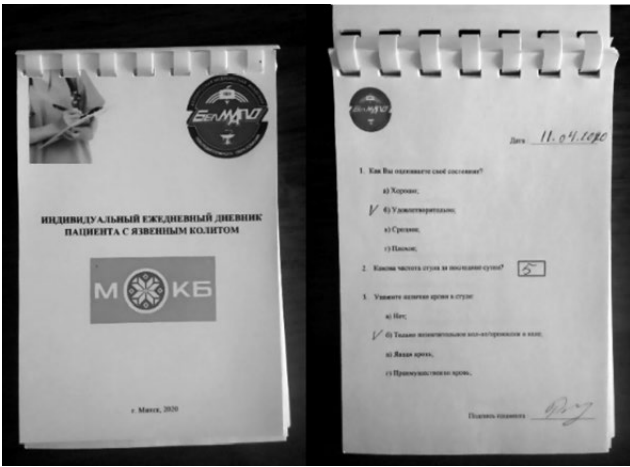


Рис. 2. Индивидуальный ежедневник, заполняемый пациентами на амбулаторном этапе

Fig. 2. An individual diary filled out by patients on an outpatient basis



Указанные ежедневники являются разработкой кафедры хирургии Института повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» и включают в себя дату, 3 вопроса (2 – с выбором варианта ответа и 1 – с указанием собственного) и подпись пациента. Их заполнение производилось пациентами на амбулаторном этапе и на протяжении первого месяца после введения БМКП. Клинический эффект оценивали по шкале Мейо (ШМ) во время контрольных визитов на 1, 3, 6 и 12-й месяц.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием лицензированных пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corporation, США) и Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде медианы, 25%-го и 75%-го квартилей (Me [LQ; UQ]).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После однократной селективной инфузии в мезентериальные артерии БМКП на основе аутологических ММСК у пациентов с ЯК не было непосредственных осложнений.

При анализе ежедневника пациента I в течение первого месяца после инфузии БМКП аутологических ММСК при селективной ангиографии зафиксировано уменьшение посуточной частоты стула с 7 до 3 раз в сутки и отсутствие патологических включений, что соответствовало симптоматической ремиссии. Длительность ремиссии составила 6 месяцев, вплоть до того момента, когда на фоне стресса и нарушения питания произошел рецидив заболевания. Активность ЯК по ШМ снизилась за данный шестимесячный период с 9 до 6 баллов (в 1,5 раза) (табл. 3).

У пациентки II в первый месяц после инфузии БМКП посуточная частота стула соответствовала норме. Через 1 месяц частота стула увеличилась до 10 раз в сутки, что было обусловлено грубым нарушением рекомендованной диеты (табл. 4).

Во время контрольных явок через 3 и 12 месяцев установлены обострения ЯК средней и легкой активности.

У пациента III оценку эффективности инфузии ММСК выполняли только по результатам опросника SF-36 на контрольных визитах и клинико-лабораторной картине. Учитывая, что данному пациенту ранее по поводу ЯК была произведена дистальная СКЭ, мезоректумэктомия с петлевой илеостомой и асцендоанальным анастомозом, и, соответственно, невозможность оценки по таким критериям, как «частота стула» и «наличие крови в стуле», ежедневник ему не выдавался.

Таблица 3

Динамика активности язвенного колита пациента I по шкале Мейо

Table 3

Dynamics of ulcerative colitis activity in patient I according to the Mayo scale

Клинический признак	Сроки наблюдения				
	Инфузия ММСК	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Частота стула	3 балла	1 балл	1 балл	2 балла	2 балла
Ректальное кровотечение	1 балл	0 баллов	1 балл	1 балл	1 балл
Эндоскопическая оценка слизистой	3 балла	2 балла	–	1 балл	1 балл
Активность заболевания	2 балла	1 балл	1 балл	2 балла	2 балла
Суммарный результат по ШМ	9 баллов	4 балла	–	6 баллов	6 баллов

Таблица 4
Динамика активности заболевания пациента II по шкале Мейо
Table 4
Dynamics of ulcerative colitis activity in patient II according to the Mayo scale

Клинический признак	Сроки наблюдения				
	Инфузия ММСК	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Частота стула	0 баллов	0 баллов	2 балла	0 баллов	3 балла
Ректальное кровотечение	0 баллов	0 баллов	1 балл	0 баллов	0 баллов
Эндоскопическая оценка слизистой	0 баллов	0 баллов	2 балла	0 баллов	1 балл
Активность заболевания	0 баллов	0 баллов	1 балл	0 баллов	1 балл
Суммарный результат по ШМ	0 баллов	0 баллов	6 баллов	0 баллов	5 баллов

Частота стула пациентки IV, согласно данным ежедневника, в первый месяц снизилась с 12 до 8 раз/сут. Общее состояние оценивалось самой пациенткой как хорошее или удовлетворительное. Геморрагического компонента в стуле к концу первого месяца наблюдения не было. Однако на контрольном визите на 3-м месяце в связи с ухудшением общего состояния было принято решение о смене тактики лечения на оперативную.

Исходя из полученных результатов, можно утверждать, что по всем клиническим признакам (частота стула, ректальное кровотечение, эндоскопическая оценка слизистой, активность заболевания), суммарному баллу по ШМ, уровню СОЭ и СРБ в течение первого месяца после инфузии БМКП у всех четырех пациентов была положительная динамика (табл. 5).

При анализе опросников SF-36 v.2 у пациентов исследуемой группы выявлено улучшение по всем шкалам за исключением «ролевого функционирования». Особенно значительное улучшение по сравнению с состоянием до инфузии аутологичных ММСК получено по шкалам «социальное функционирование» и «интенсивность боли». После инфузии ММСК: а) физическое функционирование улучшилось на 17,1% (с 72,5 до 87,5 балла); б) общее состояние здоровья улучшилось в 1,4 раза

Таблица 5
Динамика клинико-лабораторных показателей пациентов с ЯК до и после инфузии БМКП аутологичных ММСК
Table 5
Dynamics of clinical and laboratory parameters of patients with UC before and after infusion of BMCP autologous MMSCs

Сроки осмотра до и после ММСК (мес.)	Пациенты											
	I			II			III			IV		
	ШМ	СОЭ	СРБ	ШМ	СОЭ	СРБ	ШМ	СОЭ	СРБ	ШМ	СОЭ	СРБ
Перед ММСК	9	28	N	4	24	23,4	*–	22	19,3	9	27	91,9
1	4	N	7	0	N	13,5	–	N	N	4	46	44,6
3	–	N	N	6	N	N	–	N	N	9	46	45,3
6	6	N	N	0	N	13,8	–	N	N	оперирована		
12	6	N	N	5	N	9,6	выбыл					

Примечания: N – норма; * пациенту ранее выполнена дистальная субтотальная колэктомия с мезоректумэктомией и петлевой илеостомией, поэтому индекс по ШМ подсчитать невозможно.



(47,5 балла против 35,0); в) жизненная активность возросла на 29,2%; г) социальное функционирование активизировалось в 1,5 раза (56,3 балла против 37,5 балла); д) стабилизировалось психическое здоровье (68 баллов против 56 баллов). Аналогичная положительная динамика через один месяц после введения ММСК наступила по клиническим (частота стула, ректальное кровотечение, активность ЯК), лабораторным (СОЭ, СРБ) признакам и ШМ в целом у всех. Через шесть месяцев после инфузии БМКП у двух из них (50%) активность ЯК по ШМ снизилась с 9 до 6 баллов (или в 1,5 раза) и с 4 до 0 баллов, нормализовалась СОЭ, а СРБ снизился в 1,7 раза (с 23,4 до 13,8 мг/л).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании подтверждена безопасность однократной селективной инфузии в брыжеечные артерии БМКП на основе аутологичных ММСК при лечении ЯК в условиях ангиографического отделения. На основании данных индивидуальных ежедневников установлено, что на протяжении первого месяца после применения БМКП по всем клиническим признакам (частота стула, ректальное кровотечение, общая оценка самочувствия) у всех четырех пациентов была положительная динамика. Селективное введение в брыжеечные артерии БМКП пациентам с ЯК способствовало достижению и поддержанию клинической ремиссии, позволило отсрочить хирургическое вмешательство, лучше подготовить пациента и выполнить операцию в плановом порядке.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ungaro R., Mehandru S., Allen P., et al. (2017) Ulcerative colitis. *Lancet*, vol. 389, no 10080, pp. 1756–1770.
2. Ordás I., Eckmann L., Talamini M., et al. (2012) Ulcerative colitis. *Lancet*, vol. 380, no 9853, pp. 1606–1619.
3. Ungaro R., Colombel J., Lissos T., Peyrin-Biroulet L. (2019) A treat-to-target update in ulcerative colitis: a systematic review. *The Am. J. of Gastroenterol.*, vol. 114, no 6, pp. 874–883.
4. Segal J., LeBlanc J., Hart A. (2021) Ulcerative colitis: an update. *Clinical Medicine*, vol. 21, no 2, pp. 135–9.
5. Ng S., Shi H., Hamidi N., et al. (2018) Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*, vol. 390, no 10114, pp. 2769–2778.
6. Gorgun J., Baraniov K., Stolyarova T., et al. (2017) Chronic inflammatory bowel disease in the Republic of Belarus. *Lechebnoje delo*, vol. 3, no 55, pp. 5–12. (in Russian)
7. Knyazev O., Parfenov A., Ruchkina I., et al. (2013) Combined anti-inflammatory therapy of an acute attack of ulcerative colitis with the use of bone marrow mesenchymal stem cells. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*, no 4, pp. 12–19. (in Russian)
8. Shi X., Chen Q., Wang F. (2019) Mesenchymal stem cells for the treatment of ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis of experimental and clinical studies. *Stem Cell Res. & Ther.*, vol. 10, no 1, pp. 266.
9. Potapnev M., Kravchuk Z., Filonuk V. (2020) Cell treatment technologies in medical practice of healthcare organizations of the Republic of Belarus. *Healthcare*, no 11, pp. 50–60. (in Russian)