

ЗАСТОСУВАННЯ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН У ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ

М.П. Демчук, О.І. Смикодуб

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ

Резюме

Застосування стовбурових клітин (СК) у комплексному лікуванні хворих на ревматоїдний артрит (РА) призводить до тривалої стійкої ремісії. У статті показано ефективність використання СК ембріонального походження в комплексному лікуванні хворих на РА та наведено їх переваги над СК іншого походження.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, лікування, стовбурові клітини.

Вступ

Ревматоїдний артрит (РА) — хронічне аутоімунне системне запальне захворювання сполучної тканини переважно з ураженням суглобів по типу ерозивно-деструктивного прогресуючого поліартриту. Причини захворювання невідомі, частіше хворіють жінки. На РА хворіє 0,5–1% населення і розповсюдженість цієї патології з віком зростає. В основі патогенезу РА лежать аутоімунні процеси, виникненню яких сприяє дефіцит Т-супресорної функції лімфоцитів. Ушкодження суглобів починається із запалення синовіальної оболонки, яке набуває проліферативного характеру і призводить до ураження хрящів та кісток.

Найчастіше в лікуванні РА використовують комбінацію лікарських препаратів, які діють на різні ланки патогенезу. До основних, загальноприйнятих лікарських засобів належать такі швидкодіючі препарати, спрямовані на пригнічення різних факторів запалення, як нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) і глюкокортикостероїди (ГКС) та препарати сповільненої дії (хворобомодифікуючі), які впливають на імунopatологічні механізми запалення (цитостатики, амінохінолінові, сульфасалазин, препарати золота). Сучасні методи лікування не дають можливості досягти бажаного терапевтичного ефекту: отримати тривалу клініко-лабораторну ремісію, призупинити прогресування патологічного процесу, що в свою чергу зумовлює пошук нових методів лікування.

Останнім часом у лікуванні РА набуло поширення застосування стовбурових клітин (СК) з огляду на їх здатність зазнавати змін та диференціюватись у відповідь на навколишнє середовище, що включає в себе ріст, розмноження, міграцію та встановлення зв'язків з іншими клітинами. Важливим компонентом ефективності такої терапії є заміщення в органах реципієнта ушкоджених спеціалізованих тканин. Крім того, ембріональні гемопоетичні СК спричиняють явище апоптозу в лімфоїдних тканинах

при аутоімунних ураженнях, а також і в панусі, який розвивається внутрішньосуглобово. Зараз уже відомо, що стовбурові ембріональні клітини виділяють цілу серію речовин, які здатні бути індукторами апоптозу. Найбільшого вираження ці ефекти набувають при алогенних трансплантаціях гемопоетичних СК. На думку численних дослідників, використання СК у лікуванні хворих на РА може забезпечити більш стійку ремісію захворювання [2–5].

До 1990 р. для більшості аутологічних та алогенних трансплантацій основним джерелом СК був кістковий мозок. Одужанню пацієнта після трансплантації кісткового мозку залежить від трьох важливих факторів: 1) повне незворотне знищення СК реципієнта, яке забезпечується режимом кондиціювання; 2) успішна боротьба з ускладненнями після трансплантації; 3) подолання подвійного імунологічного бар'єра (відторгнення пересаджених донорських клітин імункомпетентними клітинами реципієнта та реакція "трансплантат проти хазяїна"). Дотримання режиму кондиціювання перед проведенням аутологічної трансплантації кісткового мозку у хворих на РА недоцільно [2]. Ефективною при лікуванні РА є летальна доза опромінення, часткове опромінення дає короточасний ефект. Середньовисокі дози циклофосфаміду також неадекватні. У пацієнтів з високоактивним резистентним до лікування РА досягти повної ремісії вдається в 1 з 4 випадків. При цьому зростає ризик малігнізації. Підвищення смертності асоціюється з ризиком лікування та погіршенням якості життя.

Клітини-попередники периферичної крові сьогодні майже повністю замінили кістковий мозок як джерело СК для аутологічної трансплантації. Наступне потенціальне джерело СК — пуповинна кров, яка містить вищу концентрацію примітивних клітин, ніж кістковий мозок. Трансфузію кріоконсервованих гемопоетичних клітин кордової крові здійснюють внутрішньовенно. Необхідність підбору донора, ідентичного за HLA, складнощі підготовки до трансплантації та можливі усклад-

нення — суттєві недоліки трансплантації СК, що потребують пошуку нових джерел СК, придатних для клінічного застосування.

Таким альтернативним джерелом можуть бути СК ембріонального походження. Ембріональні клітини здатні зазнавати змін та диференціюватися відповідно до закладеної генетичної інформації. В цілому, ембріональні клітини діляться частіше та швидше, ніж клітини зрілих тканин. Доведено, що клітини, взяті від ембріона 4–8 тиж гестації, мають плюрипотентні властивості, здатні трансформуватися з однієї в іншу, зокрема, гемопоетичні СК — в тканини м'язів, печінки, серця. Крім цього, в ембріональній печінці, селезінці, мозку є мезенхімальні СК, які здатні трансформуватися в клітини кісток, хрящів та м'язів. Ембріональні клітини спроможні виробляти значну кількість різних речовин, таких як ангіогенний і нейротрофічний фактори, які можуть сприяти виживанню та росту або прискорювати регенерацію за рахунок оточуючих клітин господаря. При пересадці всього 3–5% об'єму клітин відповідного органа спроможні повністю забезпечити його функцію. Багато ембріональних клітин здатні виживати при більш низькому рівні кисню, ніж їх повністю диференційовані аналоги, у зв'язку з чим вони стають більш стійкими до ішемічного ушкодження як під час маніпуляцій *in vitro*, так і після трансплантації. У проліферуючих або незрілих клітин плода здебільшого відсутні довгі відростки або сильна міжклітинна адгезія, і тому вони менше зазнають травматизації під час приготування суспензії, що дає змогу трансплантувати ембріональні тканини шляхом ін'єкції клітинної суспензії. Ці характеристики можуть пояснити і підвищене виживання ембріональних клітин і тканин порівняно з дорослими клітинами після кріоконсервування. Перевага їх ще й в тому, що вони імунологічно незрілі (слабка експресія антигенів гістосумісності) і тому відпадає потреба в їх підборі за антигенами гістосумісності. Лімфоцити, здатні спричинити реакцію “трансплантат проти хазяїна”, можна виявити тільки після 18-го тижня гестації [1].

Матеріали і методи

Ембріональні клітинні суспензії (ЕКС), що містять СК, приготовлені з трупів ембріонів людини 4–8 тиж гестації, отриманих під час штучного переривання вагітності у здорових жінок, що були обстежені на наявність вірусних та гемічних інфекцій, використовували в лікуванні хворих на РА. Трансплантацію виконували пацієнтам, в яких спостерігалися непереносимість медикаментів чи неефективність загальноприйнятих методів лікування, значне обмеження функціональних можливостей.

Через 3–4 тиж після закінчення курсу базисної терапії (враховували кумулятивний ефект базисних препаратів), яка не дала результату, на фоні симптоматичної терапії НПЗП (індомета-

цин, диклофенак, ортофен у середній добовій дозі 150–200 мг чи інші препарати в еквівалентних дозах на добу та глюкокортикоїди (середня добова доза 7,5–15 мг), місцево на суглоби у вигляді аплікації мазей, які містять НПЗП, компресів з димексидом), виконували трансплантацію кріоконсервованих ЕКС, що містять СК. Контейнери з суспензією, що містить СК, безпосередньо перед трансфузією виймали з рідкого азоту, розморожували за спеціальною методикою і вводили внутрішньовенно крапельно через систему для переливання крові на фоні фізіологічного розчину після внутрішньовенної премедикації — 10 мг димедролу і 30 мг преднізолону. Тип та об'єм суспензії, кількість клітин для введення підбирали індивідуально для кожного пацієнта. Життєздатність трансплантата оцінювали за кількістю ядровмісних та мононуклеарних клітин, за вмістом в суспензії прогеніторних клітин CD34 та за здатністю клітин до колонієутворення — вміст колонієутворювальних одиниць гранулоцит-макрофаг (CFU-GM) і колонієутворювальних одиниць гранулоцит, еритроцит, моноцит-макрофаг (CFU-GEMM).

До та після виконання трансплантації за хворими вели спостереження. Обов'язковими були клінічне та лабораторне визначення ступеня активності процесу, яке оцінювали за тривалістю ранкової скутості, проявами гіпертермії та синовіту, вмістом альфа-2-глобулінів (%), ШОЕ (мм/год) та кількістю С-реактивного протеїну. Функціональні можливості оцінювали за допомогою тесту Лі, суглобового індексу Річі та Станфордської анкети. Повне лабораторне обстеження включало: загальний аналіз крові з визначенням рівня фетального гемоглобіну, дослідження білкових фракцій, визначення рівня циркулюючих імунних комплексів, титру ревматоїдного фактора, вмісту імуноглобулінів класів А, М, G і субпопуляцій Т- та В-лімфоцитів. Усі дослідження виконували перед лікуванням, через 2 тиж після лікування, через 1 міс, а потім кожні наступні 3 міс.

Результати та їх обговорення

Ефективність лікування оцінювали за зниженням активності захворювання, підвищенням функціональних можливостей, нормалізацією хелперно-супресорного співвідношення Т-лімфоцитів, зниженням титру ревматоїдного фактора, зменшенням необхідної добової дози ГКС та НПЗП і як віддалені наслідки лікування застосовували рентгенологічне підтвердження зворотних змін у суглобах.

У всіх пацієнтів після введення ЕКС спостерігали синдром раннього посттрансплантаційного покращання у вигляді підвищення фізичної та розумової активності, зменшення тривалості ранкової скутості, покращання сну, апетиту. Поступово знижувалася активність захворювання за клінічними та лабораторними пока-

Результати лікування ревматоїдного артриту

Показник	До лікування, бали	Після лікування, бали					
		15 днів	30 днів	3 міс	6 міс	9 міс	12 міс
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
C-реактивний протеїн	3	2	2	1	1	0	0
Альфа-2-глобуліни, %	2	2	2	2	2	2	2
<i>Разом:</i>	14	12	10	6	5	3	3

зниками запального процесу (дані наведено в таблиці). В жодному з випадків не спостерігалися ускладнення чи побічна дія як після прийому ГКС та НПЗП, так і в процесі чи після виконання трансплантації ЕКС, що містять СК; не спостерігалася реакція ТПХ як при первинному, так і повторному введенні ЕКС. У всіх випадках вдалося знизити дозу ГКС (в окремих хворих зникла потреба в їх прийомі) та НПЗП, не було потреби в додатковому застосуванні анальгетиків. Результати спостереження за активністю РА у 26 пацієнтів протягом року, яким виконували трансплантацію суспензії кріоконсервованих СК ембріональної печінки людини, наведено в таблиці. Ступінь активності перебігу РА оцінювали за балами: і відсутність активності — 0 балів; мінімальна — 1–6 балів; середня — 7–12 балів; висока — 13–18 балів.

Висновки

Використання СК ембріонального походження в комплексному лікуванні хворих на РА виявилось ефективним як щодо клінічного ефекту, так і простоти застосування і в жодного хворого не супроводжувалося алергічними проявами чи побічними реакціями.

Показаннями до застосування ЕКС в лікуванні РА є рефрактерний до загальноприйнятої терапії перебіг РА, значне обмеження рухів у суглобах та зниження функціональних можливостей, трофічні порушення м'язової та кісткової систем.

Протипоказанням до застосування ЕКС є артрити бактеріального походження; васкуліти в активній стадії, капілярити, флебіти; виражена легенева гіпертензія, що асоціюється з васкулітами, тромбозами; виразкова хвороба з відкритою виразкою, що може дати кровотечу.

Література

1. Гриневич Ю.Я., Смикодуб О.І., Бендюг Г.Д. та ін. Застосування трансплантації кріоконсервованих гемопоетичних клітин ембріональної печінки в комплексному лікуванні хворих на злоякісні новоутворення: Метод. рекомендації. — К., 1999. — 12 с.
2. D.W. van Bekkum. Effectiveness and risks of total body irradiation for conditioning in the treatment of autoimmune disease with autologous bone marrow transplantation // *Rheumatology*. — 1999. — Vol. 38, № 8. — P. 757–761.
3. Haley N.R., Snyder E.L. Hematopoietic Progenitor Cells: A Primer for Medical Professionals. American Association of Blood Banks. — 2000. — 230 p.
4. Sacher R.A. Cellular Therapy: New Frontiers in Transfusion Medicine. — American Association of Blood Banks Bethesda, Maryland. — 2002. — 137 p.
5. Snowden J.A., Brooks P.M. Hematopoietic stem cell transplantation in rheumatic diseases // *Curr Opin Rheumatol*. — 1999. — Vol. 11, № 3. — P. 167–172.

Применение стволовых клеток в лечении больных с ревматоидным артритом

М.П. Демчук, О.И. Смикодуб

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца

Резюме

Применение стволовых клеток (СК) в комплексном лечении больных с ревматоидным артритом (РА) приводит к стойкой длительной ремиссии. В статье показана эффективность применения СК эмбрионального происхождения в комплексном лечении больных с РА и приведены их преимущества над СК другого происхождения.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, лечение, стволовые клетки.

Stem cell application in the complex treatment of patients with rheumatoid arthritis**M.P. Demchuk, O.I. Smikodub***A.A. Bogomolets National medical University***Summary**

Stem cell application in the complex treatment of patients with rheumatoid arthritis leads to stable lasting remission.

The article shows effectiveness of the application of embryonic stem cells in the complex treatment of patients with rheumatoid arthritis. It gives the advantages of embryonic stem cells over the cells of the other type.

Key words: rheumatoid arthritis, treatment, stem cell.
