

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РЕФРАКТЕРНЫХ ФОРМ БОЛЕЗНИ КРОНА: ТРИ ГОДА НАБЛЮДЕНИЯ

Лазебник Л.Б.¹, Князев О.В.¹, Парфенов А.И.¹, Коноплянников А.Г.², Сагынбаева В.Э.¹, Ручкина И.Н.¹,
 Гудкова Р.Б.¹, Хомерики С.Г.¹, Чукунова Б.З.¹, Михайлова З.Ф.¹, Щербаков П.Л.¹, Рогозина В.А.¹

¹ ГУ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ г. Москвы

² Медицинский радиологический научный центр РАМН, г. Обнинск

Князев Олег Владимирович

111123, Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86

E-mail: oleg7@bk.ru

ВВЕДЕНИЕ

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), к которым относятся язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК), являются одной из наиболее актуальных проблем современной гастроэнтерологии. Это обусловлено тем, что этиология ЯК и БК до сих пор остается неизвестной, а их естественное течение и ответ на терапию не всегда прогнозируемы.

Заболеваемость ЯК составляет 25–50 человек на 100 тысяч населения, БК — 5–15. Наибольшее число случаев приходится на возраст 20–40 лет. Это наиболее трудоспособный возраст, что делает заболевание социально значимым. Например, в США насчитывается более 250 тыс. больных ВЗК — это 25 млн врачебных визитов, 29 тыс. госпитализаций и огромные финансовые потери. В результате стоимость лечения одного больного ВЗК в США составляет порядка 20–50 тыс. долларов в год, что в масштабах страны приводит к ежегодным затратам около 2 млрд долларов. Частота ЯК в России составляет 20:100000 населения (из них около 10% приходится на детей). По данным МОНИКИ, заболеваемость ЯК в Московской области составляет 20,1 на 100 тыс. населения. Реальная частота распространенности ЯК существенно выше, так как легкие формы ЯК нередко не диагностируются [1]. Рост заболеваемости данной патологией среди наиболее трудоспособного возраста населения, их инвалидизация требуют постоянного поиска новых методов терапии этой группы заболеваний.

Несмотря на значительный прогресс в изучении патогенеза воспалительных заболеваний кишечника и широкий спектр применяемых лечебных средств, терапия не всегда оказывается эффективной. В 25–35% случаях заболевания приобретают непрерывное и рецидивирующее течение. В 35% случаев развивается стероидорезистентное или стероидозависимое течение ВЗК, а также резистентность

не только к гормонам, но и к иммуносупрессивным препаратам, что приводит к развитию тяжелых осложнений, оперативным вмешательствам и выходу на инвалидность лиц молодого трудоспособного возраста. В исследованиях В. Моуп и соавт. показано, что кумулятивный риск рецидива в течение первого года после установления диагноза ВЗК составляет 50% при ЯК и 47% при БК. По результатам исследований, проведенных датскими учеными под руководством Pia Munkholm, среди пациентов с БК, леченных глюкокортикостероидами, лишь у 44% наблюдается стойкая ремиссия в течение первого года, в то время как у 36% формируется стероидозависимость и у 20% — стероидорезистентность. Аналогичные результаты в отношении ЯК получены в клинике Мэйо, где было показано, что у больных, впервые леченных стероидными гормонами, только у 49% наблюдался пролонгированный ответ, у 22% развилась стероидозависимость, а у 29% возникла необходимость в колэктомии из-за резистентности к лечению [2].

Данные проблемы потребовали разработки новых терапевтических направлений в лечении больных с ВЗК. Прогресс в изучении молекулярных мишеней воспаления при ВЗК способствовал серьезному успеху — появлению и развитию антицитокиновой, или биологической, терапии (БТ). Несмотря на отсутствие этиотропного лечения ВЗК, быстрое развитие высоких медицинских и фармацевтических технологий способствует созданию все большего количества новых лекарственных препаратов для лечения ВЗК, что, безусловно, повысит эффективность лечения этих заболеваний. Применение в клинической практике биологических агентов уже сейчас позволяет помочь многим пациентам, рефрактерным ко всем другим известным методам терапии. Признание важной

роли α -ФНО в патогенезе иммуновоспалительных заболеваний привело к разработке моноклональных антител, направленных на ингибицию этого цитокина. Их характеризует высокая специфичность, что обеспечивает селективное действие на определенные звенья патогенеза иммуновоспалительных заболеваний и минимальное влияние на физиологические механизмы функционирования иммунной системы. Эти свойства позволяют существенно снизить риск побочных эффектов при применении иммуноактивных препаратов. Однако частота развития ремиссий при их применении составляла не более 30%, а около трети больных были вынуждены прекращать лечение из-за развития вторичной неэффективности или побочных эффектов [3–5]. Проводимые клинические испытания некоторых биологических препаратов (Daclizumab, Visilizumab, Etanercept, Natalizumab) были приостановлены либо из-за выраженной токсичности и развития серьезных осложнений, либо ввиду отсутствия достоверной разницы в эффективности в двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях [6]. Нельзя не учитывать при лечении болезни Крона и язвенного колита тот факт, что в их патогенезе принимает участие большое количество биологически активных веществ, гормонов и других регуляторов воспаления.

Таким образом, суммируя все причины, можно говорить, что около 40% больных воспалительными заболеваниями кишечника нуждаются в проведении альтернативной биологической терапии, в том числе клеточной [7]. В свете этого перед врачом-гастроэнтерологом стоят задачи дальнейшего поиска методов, направленных на уменьшения выраженности клинических проявлений заболевания, предотвращение возникновения рецидивов, минимизацию побочных эффектов лечения, улучшение качества жизни. Учитывая данные обстоятельства, внимание клиницистов привлекла клеточная терапия как один из методов биологической терапии.

Впервые термин «стволовые клетки» впервые ввел в 1908 году выдающийся русский ученый — профессор императорской Военно-медицинской академии и Петроградского университета Александр Александрович Максимов (1874–1928), создатель унитарной теории кроветворения, сформулировав это положение в статье «Лимфоцит как общая стволовая клетка разнообразных элементов крови в эмбриональном развитии и постфетальной жизни млекопитающих» [8]. Открытие в 1970-е годы А. Фриденштейном мезенхимальных стромальных клеток (МСК) [9] положило начало исследованиям роли этих клеток в регенерации поврежденных тканей взрослого организма. Было показано, что МСК костного мозга обладают способностью к дифференцировке *in vitro* в различные типы клеток [10–13]. Имеющиеся в настоящее время публикации свидетельствуют о том, что МСК костного мозга обладают очень широкой пластичностью. Многолетние исследования показали, что эти клетки обладают

способностью дифференцироваться в костную, хрящевую и соединительную ткани [14], костномозговые элементы [15], миобласты [15], кардиомиоциты [16–18], эндотелиальные клетки [19], нервные клетки [20], эпителиальные клетки легких [21]. Существует ряд работ, демонстрирующий дифференцировку СК в слизистую оболочку кишечника в зрелые энтероциты [22; 23]. Мезенхимальные стромальные клетки индуцируют супрессивное местное микроокружение путем продукции простагландинов и интерлейкина-10 [24; 25], которые и создают иммуносупрессивную среду в ткани, подвергшейся иммунной агрессии [26]. МСК могут также ингибировать некоторые функции В-клеток [27], NK-клеток [28] и дендритных клеток (ДК) [29]. В частности, было показано, что МСК способны ингибировать активацию и пролиферацию В-клеток, а также секрецию IgG; помимо этого, МСК КМ оказывают ингибирующий эффект на экспрессию CD40L на В-клетках [30].

Несомненно, что золотым стандартом клеточной терапии является аутологичная трансплантация, тем не менее представляет интерес и изучение возможностей аллогенной трансплантации МСК. Характер взаимодействия МСК с клетками реципиента позволяет осуществлять аллогенную трансплантацию несовместимых по антигенам главного комплекса гистосовместимости (МНС) МСК без сопутствующей иммуносупрессии. Установлено, что иммунотолерантность к МСК со стороны иммунной системы реципиента не обусловлена отсутствием или низкой степенью экспрессии молекул МНС на поверхности МСК. Так была обнаружена высокая степень экспрессии антигенов МНС I класса и отсутствие антигенов МНС класса II, которые обнаруживались внутриклеточно [31], а после добавления в культуру гамма-интерферона МНС II класса экспрессировались и на клеточной поверхности. Однако МСК человека не экспрессируют стимулирующие молекулы B7-1, B7-2 и CD40 [32], при отсутствии которых контакт Т-клеточного рецептора и МНС приводит к состоянию анергии Т-лимфоцитов [33].

Полученные данные расширяют возможности клинического применения МСК костного мозга человека. Области медицины, в которых использование стволовых клеток прошло полный путь изучения от экспериментальных работ до широкого эффективного клинического применения, являются онкология и онкогематология. Полученные положительные результаты экспериментальных исследований позволили перейти к многоцентровым клиническим испытаниям трансплантации стволовых клеток в различных отраслях медицины.

Первое сообщение об успешной аллогенной трансплантации костного мозга больному с болезнью Крона, которая была выполнена по поводу



лимфомы, относится к 1993 году [34]. За последнее десятилетие опубликовано большое количество работ по результатам клинических исследований с применением культуры клеток у больных болезнью Крона [35–37]. Недавно были опубликованы результаты второго открытого исследования по применению аутологичных МСК у больных с рефрактерной формой болезни Крона [38]. В этом исследовании больным трансплантировали аутологичные МСК, полученные после трех пассажей. У четырех пациентов индекс Беста снизился с 334 до 226 через шесть недель после введения МСК. Эндоскопическая ремиссия была достигнута у больных с колитом, но не с поражением подвздошной кишки. Открытая фаза исследования была проведена с целью оценки безопасности и эффективности двух введений МСК у больных с умеренной и тяжелой болезнью Крона [39]. Получены положительные результаты, свидетельствующие об эффективной местной клеточной терапии болезни Крона. Ни в одном случае не было отмечено развития каких-либо побочных эффектов при среднем сроке наблюдения 22 месяца [40; 41].

Проведено исследование, оценивающее безопасность метода клеточной терапии. Данные, указывающие на безопасность местной трансплантации МСК, полученные авторами, очень важны, поскольку в эксперименте было показано, что клетки костного мозга, мигрирующие в очаг хронического воспаления желудочно-кишечного тракта, могут стать причиной возникновения аденокарциномы [42]. Катамнестические данные и морфологические исследования биоптатов отрицают образования опухолей у пациентов через год после проведения процедуры. Слияние клеток костного мозга (ККМ) с клетками кишечного эпителия не инициирует развитие опухоли. По-видимому, ККМ при этом не становятся стволовыми клетками опухоли, а интегрируются с уже развитой опухолью. Это предположение отличается от теории, выдвинутой группой J. Houghton в модели рака желудка и предполагающей функционирование слившихся клеток как стволовых клеток опухоли.

Таким образом, опубликованные данные свидетельствуют о том, что трансплантация кроветворных стволовых клеток на сегодняшний день стала одним из самых многообещающих подходов к комплексному лечению хронических воспалительных заболеваний кишечника. МСК может стать дополнительным методом лечения болезни Крона, позволяющим обойтись без калечащих хирургических операций [43; 44] особенно для пациентов, которым не помогает стандартная терапия.

Трансплантация мезенхимальных стромальных клеток при лечении тяжелых, рефрактерных форм различных заболеваний в настоящее время не является стандартной терапией и требует дальнейшего проведения клинических исследований, однако уже сейчас эффективность данного метода убеждает в необходимости расширения дальнейших исследований. До широкого внедрения этого вида

терапии в клиническую практику необходимо будет решать вопрос об определении четких клинических, эндоскопических, иммунологических показаний для данного метода лечения. Накопленный клинический опыт свидетельствует, что аллогенная трансплантация МСК имеет ряд преимуществ перед аутологичной трансплантацией, первоначальные результаты демонстрируют безопасность данного метода терапии.

На данный момент до конца не определены механизмы действия аллогенных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга, существующие публикации о биологической терапии болезни Крона не дают ответа на вопрос об оптимальных сроках, частоте и необходимом количестве клеточного материала, пока нет четких клинических, эндоскопических и лабораторных показаний для трансплантации МСК с целью достижения оптимального эффекта от данного вида терапии. Нами выбран наиболее адекватный способ введения и методы оценки клинической эффективности клеточной терапии. Положительные предварительные результаты проводимых в различных странах клинических и экспериментальных исследований обосновывают актуальность, перспективность и достаточную безопасность метода трансплантации аллогенных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для лечения больных с воспалительными заболеваниями кишечника. На все неясные вопросы может ответить более тщательно подготовленная следующая фаза испытаний метода клеточной терапии. Однако уже сейчас можно говорить о перспективности этого метода, который может стать альтернативой прочим методам лечения ВЗК и значительно улучшить качество жизни пациентов.

Цель работы: сравнить эффективность биологической терапии препаратом инфликсимаб (Ремикейд®) и трансплантации мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в комплексной терапии у больных с непрерывным и рецидивирующим течением болезни Крона со стандартной терапией препаратами 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК), глюкокортикостероидами (ГКС), иммуносупрессорами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В отделении патологии кишечника Центрального научно-исследовательского института гастроэнтерологии трансплантация МСК была осуществлена 20 больным болезнью Крона — 1-я группа. Возраст — от 19 до 60 лет (Me 28 лет). Продолжительность болезни составляла от 2 до 28 лет (Me 6 лет). Для осуществления системной трансплантации 150–200 млн аллогенных МСК (3 млн клеток на кг массы тела), размноженных в культуре, клетки взвешивались в 200 мл стерильного физиологического раствора, содержащего гепарин в концентрации 50 ед/мл, и внутривенно вводились пациенту в течение 40–60 минут. Перед введением МСК больному

с целью профилактики посттрансфузионных осложнений вводился преднизолон 60–90 мг внутривенно струйно. Культуру МСК вводили однократно. После трансплантации МСК дозу ранее назначенных глюкокортикостероидов снижали в течение полутора-двух месяцев, постепенно снижали до полной отмены (при отсутствии рецидива заболевания), а иммуносупрессоры отменяли. Время наблюдения за больными составило от 18 до 36 месяцев. Иммуносупрессоры (азатиоприн) отменяли за 3 суток до трансплантации МСК. После трансплантации МСК дозу ранее назначенных глюкокортикостероидов (не более 30 мг/сут) снижали в течение полутора-двух месяцев до полной отмены (при отсутствии рецидива заболевания).

Терапия инфликсимабом (ИНФЛ) в отделении патологии кишечника ЦНИИГ проводится с 2008 года и осуществлена 15 больным болезнью Крона — 2-я группа. Возраст больных находился в пределах 25–60 лет (Me 32 года). Продолжительность болезни составляла от 3 до 30 лет (Me 8 лет). Введение осуществлялось согласно общепринятой схеме. Индукционный курс: в разовой дозе 5 мг/кг, повторное введение препарата в той же дозе производят через 2 и 6 недель после первого введения. Поддерживающая терапия: введение Ремикейда® каждые 8 недель не менее года. ИНФЛ может вызвать развитие острых реакций, связанных с инфузией, и аллергических реакций замедленного типа. Срок развития этих реакций разный. Поэтому за состоянием всех пациентов, получающих Ремикейд®, наблюдали на протяжении не менее 2 часов после инфузии. Острые инфузионные реакции могут развиваться немедленно или на протяжении нескольких часов после введения. Для предупреждения реакций (слабых или транзиторных) больному перед началом инфузии вводился антигистаминный препарат, гидрокортизон и/или парацетамол. Наибольшую опасность представляет латентная форма туберкулеза под влиянием инфликсимаба. У больных перед началом терапии тщательно был собран туберкулезный анамнез, они были обследованы рентгенологически — R-грамма грудной клетки, туберкулиновая проба, все консультированы фтизиатром. Время наблюдения за данной группой пациентов составило от 12 до 36 месяцев.

В группу сравнения мы включили 20 больных БК (3-я группа), которые получали терапию препаратами 5-аминосалициловой кислоты в дозе 3–4 г/сут, глюкокортикостероидами в дозе 0,75–1,5 мг/кг/сут и иммуносупрессорами (азатиоприн в дозе 2,5 мг/кг/сут). Возраст больных находился в пределах 17–60 лет (Me 42 года). Продолжительность болезни составляла от 3 до 30 лет (Me 6 лет).

По распространенности процесса при болезни Крона воспалительный процесс имеет дискретный характер с возможной локализацией в толстой, в тонкой кишках (терминальный илеит) либо в тонкой и толстой одновременно (илеоколит). В группе больных с применением МСК (1-я группа) больные

разделились следующим образом: у 9 (45,0%) больных имелось на момент обследования изолированное поражение толстой кишки (колит), у 9 (45,0%) — изолированное поражение тонкой кишки (илеит), у 2 (10,0%) больных — сочетанное поражение как тонкой, так и толстой кишки (илеоколит). В группе больных, получающих ИНФЛ (2-я группа), изолированное поражение толстой кишки (колит) было у 8 (53,3%) больных, у 5 (33,3%) — изолированное поражение тонкой кишки (илеит), как тонкой, так и толстой кишки (илеоколит) у двух больных — 13,3%. В группе 5-АСК/ГКС (3-я группа) изолированное поражение толстой кишки (колит) было у 11 (55,0%) больных, у 9 (45,0%) — изолированное поражение тонкой кишки (илеит), сочетанного поражения кишечника в этой группе не было.

Тяжесть атаки болезни Крона вычислялась в баллах, с этой целью применялся индекс Беста (CDAI), учитывающий частоту жидкого или кашицеобразного стула в течение последней недели (сумма за 7 дней), боли в животе (сумма за 7 дней), общее самочувствие (сумма за 7 дней), наличие или отсутствие внекишечных проявлений (артрит и артралгии, ирит и увеит, узловатая эритема, гангренозная пиодермия и афтозный стоматит, анальные поражения — трещины, свищи, абсцессы), лихорадку выше 37,5° в течение последней недели, применение симптоматических антидиарейных препаратов, резистентность мышечной стенки живота, массу тела, показатели гематокрита с учетом пола и уровень С-реактивного белка (СРБ). В оригинальном варианте полученную сумму баллов интерпретируют следующим образом: легкая — CDAI 150–220, умеренная — CDAI 220–450, тяжелая — CDAI более 450 (табл. 1).

У 15 пациентов БК (колитом или илеоколитом), которым проводилась терапия инфликсимабом, индекс Беста до начала терапии составлял от 481 до 272, в среднем $265,5 \pm 14,6$, уровень СРБ — $27,6 \pm 6,1$ мг/л. У 20 больных, которым была осуществлена трансплантация МСК, он составил от 361 до 196, в среднем $246,9 \pm 12,1$, уровень СРБ — $26,7 \pm 4,4$ мг/л. В третьей группе наблюдения индекс Беста составил в среднем $234,3 \pm 10,9$, уровень СРБ — $25,7 \pm 4,7$ мг/л. Таким образом, при сравнении групп до начала терапии различий в клиническом течении болезни не было (табл. 2).

Тяжесть атаки на момент обследования оценивалась с учетом клинических данных (тяжесть диареи, боли в животе, общее самочувствие, похудание), а также лабораторных данных (степень анемизации) (табл. 3).

Для оценки гормонорезистентности и гормонозависимости ВЗК использовались методические рекомендации, подготовленные на основе Европейского консенсуса по диагностике и лечению болезни Крона и язвенного колита, принятого Европейской



Таблица 1

ТЯЖЕСТЬ АТАКИ БОЛЕЗНИ КРОНА		
Легкая	Умеренная	Тяжелая
CDAI 150–220	CDAI 220–450	CDAI более 450
Амбулаторный больной, принимающий пищу и питье, потеря массы тела менее 10%. Отсутствие признаков обструкции, лихорадки, обезвоживания, абдоминального образования или болезненности. Уровень СРБ обычно превышает верхний предел нормы	Периодическая рвота или потеря массы тела более 10%. Неэффективность лечения болезни с легкой активностью или пальпируемый болезненный инфильтрат. Явной обструкции нет	Кахексия (ИМТ менее 18) или признаки обструкции или абсцесса Постоянные симптомы, несмотря на интенсивное лечение Уровень СРБ повышен

Таблица 2

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ											
Группы	Пол		Возраст (лет)				Длительность болезни			Активность болезни индекс CDAI и СРБ	
	м	ж	18–29	30–39	40–49	50–60	< 1 года	1–3 года	> 3 лет	индекс CDAI ($M \pm m$)	СРБ, мг/л ($M \pm m$)
МСК ($n = 20$)	11	9	5	9	5	1	—	11	9	246,9 $\pm$ 12,1	26,7 $\pm$ 4,4
ИНФ ($n = 15$)	6	9	8	4	1	2	—	6	9	265,5 $\pm$ 14,6	27,6 $\pm$ 6,1
ГКС ($n = 20$)	8	12	6	9	4	1	2	9	9	234,3 $\pm$ 10,9	25,7 $\pm$ 4,7

Таблица 3

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ БОЛЕЗНЬЮ КРОНА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПОРАЖЕНИЯ, ХАРАКТЕРА ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ И ТЯЖЕСТИ АТАКИ			
Распространенность, характер течения	1-я	2-я	3-я
Распространенность			
Колит	9/45,0	8/53,3	11/55,0
Илеит	9/45,0	5/33,3	9/45,0
Илеоколит	2/1,0	2/13,3	—
Тяжесть атаки			
Легкая	4/20,0	—	5/25,0
Среднетяжелая	15/75,0	12/80,0	15/75,0
Тяжелая	1/5,0	3/20,0	—

Примечание: в числителе — абсолютное число больных, в знаменателе — процент.

организацией Крона и колита в 2004 году с дополнениями 2009 года. Согласно этим рекомендациям определение гормонорезистентности подразумевает сохранение активной формы заболевания, несмотря на применение преднизолона в дозе до 0,75 мг/кг/сут в течение 4 недель. Гормонозависимость предполагает, что при снижении дозы ГКС ниже эквивалента преднизолона 10 мг/сут (или дозу будесонида ниже 3 мг/сут) в течение трех месяцев после начала приема ГКС происходит рецидив активности заболевания, а также если у больных ВЗК происходит рецидив

в течение трех месяцев после отмены кортикостероидов. Данное определение предполагает, чтобы общая продолжительность приема кортикостероидов не превышала трех месяцев до достижения ремиссии болезни. Данные рекомендации служат руководством для клинической практики и могут использоваться для однородности клинических исследований. Цель терапии состоит в быстром достижении индукции и сохранении стойкой ремиссии, отмене стероидов/иммуносупрессоров или уменьшение потребности в них и минимизации

их побочных эффектов, профилактике осложнений, снижении частоты госпитализаций, уменьшении потребности в хирургическом лечении, достижении эндоскопической ремиссии и улучшение качества жизни [45].

Эндоскопическое исследование проводили на видеосистеме EVE W-88A фирмы «Фуджинон». При болезни Крона наиболее ранними эндоскопическими структурными изменениями (минимальная активность) являются афты до 4 мм — фаза афт, которые превращаются в продольные щелевидные язвы или язвы переплетенной формы, окруженные нормальной, воспалительно не измененной слизистой оболочкой, — фаза язв. При нарастании активности выявляется слизистая оболочка в виде булыжной мостовой, язвы увеличиваются, становятся продольными и сливаются друг с другом, появляется умеренная контактная кровоточивость. При длительном течении без лечения образуются обширные дорожки из язв, рубцовые деформации, стриктуры, потеря гаустр, свищевые ходы, псевдополипы. Характерным для болезни Крона является дискретный характер поражения (участки воспалительно измененной слизистой чередуются с участками неизмененной слизистой), продольная ориентированность язв, их значительная глубина.

Критерием, используемым в большинстве клинических исследований при отборе пациентов с БК, находящихся в стадии клинической ремиссии, является индекс Беста (CDAI) менее 150. CDAI остается основным индексом для оценки исхода исследований БК. Ответ должен определяться как снижение CDAI на 100 пунктов или более, это стало обычным определением и используется для оценки литературных данных и клинических исследований. В некоторых исследованиях, включая те, где первоначально оценивается эффективность инфликсимаба, использована меньшая конечная точка ответа со снижением CDAI ≥ 70 пунктов [46].

Учитывая мнение Международной организации по исследованию ВЗК, ECCO-исследования, оценивающие поддержание ремиссии при ЯК и БК, должны длиться не менее 12 месяцев, как и длительность самой ремиссии [47; 48].

Клинический анализ крови выполнялся на полуавтоматическом гематологическом анализаторе ADVIA[®]60 фирмы Bayer Health Care. Биохимический анализ крови выполнялся на биохимическом анализаторе Olympus AU 400 с использованием реактивов фирмы Olympus производства Германии.

Для ранней диагностики колоректального рака нами проводилось определение уровня онкомаркеров СА 242 и СА 19–9. СА 242 — онкомаркер для диагностики рака поджелудочной железы, толстой и прямой кишки. Чувствительность маркера СА 242 при раке поджелудочной железы выше по сравнению с чувствительностью СА 19–9 на всех стадиях заболевания (при первой стадии по — 41 и 29% соответственно). При раке толстой и прямой кишки СА 242 является более чувствительным,

чем другие онкомаркеры (чувствительность 40%, специфичность 90%; чувствительность СА 19–9–23%). Совместное использование СА 242 и СА 19–9 не увеличивает диагностическую чувствительность теста. Комбинация СА 242 и РЭА повышает чувствительность теста в отношении диагностики рака толстой и прямой кишки на 25–40%. Экспрессия СА 242 низкая, а при злокачественных опухолях его экспрессия значительно выше. На сегодняшний день является одним из основных маркеров, используемых для диагностики и мониторинга рака поджелудочной железы, рака толстой и прямой кишки. Специфичность намного выше, чем у СА 19–9, что позволяет проводить диагностику уже на ранних стадиях заболевания. По различным данным, с помощью этого теста удается прогнозировать развитие рецидивов колоректального рака за 5–6 месяцев.

Для оценки структурных изменений кишки срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Бокаловидные клетки выявляли при помощи ШИК-реакции с контролем амилазой. Морфометрическое исследование проводилось с помощью системы автоматического анализа видеоизображений Cito-W, фирмы Dia-Morph.

Контроль эффективности терапии оценивали визуально, планиметрическим и морфологическим методами через 2, 6 и 12 месяцев после трансплантации клеток. Изменения морфологической картины слизистой оболочки тонкой и толстой кишки при ЯК и БК оценивали по шкале, предложенной Гебс [49].

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Microsoft[®] Office Excel 2003; Statistica v. 6.0; Primer of Biostatistics Version 4.03 by Stanton A. Glantz 1998. Для определения значимости различий между средними величинами при нормальном распределении совокупностей применялся *t*-критерий Стьюдента. Различия считались значимыми при уровне вероятности $p < 0,05$. При оценке данных, не отвечающих нормальному распределению, использовались непараметрические методы: ранговый критерий Манна — Уитни. Для оценки эффективности лечения заболевания (в данном случае исход — стабильность или продолжительность ремиссии) использовалась кривая выживаемости. Для оценивания кривой выживаемости использовалась моментный метод Каплана — Мейера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для того чтобы правильно оценить эффективность терапии болезни Крона, мы руководствовались международными соглашениями, подготовленными на основе Европейского консенсуса по диагностике



и лечению болезни Крона и язвенного колита, принятого Европейской организацией Крона и колита в 2004 году с дополнениями 2009 года. Для оценки литературных данных и клинических исследований CDAI остается основным индексом для оценки исхода исследований БК. Он способствует объективности данных, но не используется в клинической практике. Большинство клинических исследований пациентов с активной БК в настоящее время учитывают уровень СРБ выше 10 мг/л. Критерием, используемым в большинстве клинических исследований по отбору пациентов с БК, находящихся в стадии клинической ремиссии, является CDAI менее 150. Учитывалось мнение Международной организации по исследованию ВЗК (The European Crohn's and Colitis Organization — ECCO), которая считает, что исследования, оценивающие поддержание ремиссии при БК, должны длиться не менее 12 месяцев. Мы использовали рекомендуемый срок для оценки эффективности проводимой терапии болезни Крона.

У больных БК, получавших комплексную терапию с трансплантацией МСК (1-я группа), исходный индекс активности по Бесту в среднем составил $246,9 \pm 12,2$ балла, у больных 2-й группы — $265,5 \pm 14,6$, у больных 3-й группы — $234,3 \pm 10,9$ ($p > 0,05$), уровень СРБ составил — $26,7 \pm 4,4$; $27,6 \pm 6,1$ и $25,7 \pm 4,7$ соответственно ($p > 0,05$). У больных, которым назначена терапия инфликсимабом, средняя продолжительность заболевания составила $7,8 \pm 1,8$ года против $6,2 \pm 1,4$ у больных 1-й группы и $7,0 \pm 1,4$ — в 3-й. Средняя продолжительность приема азатиоприна у больных 1-й группы составила $5,7 \pm 0,8$ месяца, во 2-й — $15,7 \pm 0,8$; в 3-й — $6,5 \pm 0,9$. Учитывая более тяжелое и длительное течение болезни Крона у больных, которым назначен инфликсимаб, среднегодовая доза приема преднизолона была больше, чем в группах, получающих терапию ГКС и которым была осуществлена трансплантация мезенхимальных стромальных клеток, и составила $3772,5 \pm 154,9$ мг. Сравнительная характеристика

пациентов болезнью Крона по группам в зависимости от метода терапии представлена в табл. 4.

За период наблюдения в каждой группе больных имелись особенности течения болезни Крона. У 10 больных (50%), которым была осуществлена трансплантация аллогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, через 2 месяца наблюдения достигнута полная клиническая ремиссия — диарея не более 2 раз в сутки, стул оформленной консистенции, без патологических примесей; боли в животе не беспокоят, общее состояние удовлетворительное, отмечалась прибавка массы тела, исчезновение болевого синдрома, у 8 больных достигнута клинко-эндоскопическая ремиссия (40,0%), зарегистрировано полное заживление слизистой оболочки толстой кишки, в то время как на стандартной терапии процент заживления слизистой составляет около 20%. Через 6 месяцев количество больных, достигших клинко-эндоскопической ремиссии сохранялось на прежнем уровне (50%). Через 12 месяцев ремиссия, достигнутая в первые два месяца наблюдения, сохранялась у 16 больных болезнью Крона.

14 больных болезнью Крона, которым осуществлена трансплантация МСК, ранее получавшие глюкокортикостероиды (преднизолон, Буденофальк®), в настоящее время получают только препараты 5-АСК (Пентаса®, Салофальк®). У 11 больных (55,0%) зарегистрирована клинко-морфологическая ремиссия, у остальных 5 — полная клиническая ремиссия с частичной эндоскопической ремиссией. После трансплантации МСК у четверых больных (с болезнью Крона толстой кишки и терминальным илеитом) ответа не было — сохранялись диарея, болевой синдром, повышенная температура тела, сохранялись внекишечные симптомы, анемия: у одного из них заболевание прогрессировало, осложнилось кишечной непроходимостью, и больному выполнена резекция терминального отдела тонкой кишки с наложением илеотрансверзоанастомоза. Другим больным назначены инфликсимаб и высокие дозы ГКС. За 36 месяцев наблюдения индекс Беста

Таблица 4

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ БК			
Показатель	Группа МСК (n = 20)	Группа ИНФ (n = 15)	Группа ГКС (n = 20)
Возраст, лет	$37,0 \pm 2,9$	$38,8 \pm 5,8$	$36,9 \pm 2,8$
Длительность БК, лет	$6,2 \pm 1,4$	$7,8 \pm 1,8$	$7,0 \pm 1,4$
Средняя продолжительность приема азатиоприна, месяцев	$5,7 \pm 0,8$	$15,7 \pm 0,8$	$6,5 \pm 0,9$
Среднегодовая доза преднизолона, мг	$3185,5 \pm 324$	$3772,5 \pm 154,9$	$3136,9 \pm 239$
Индекс CDAI	$247,6 \pm 10,3$	$255,0 \pm 13,0$	$250,4 \pm 10,4$
СРБ, мг/л	$26,9 \pm 4,2$	$27,5 \pm 3,7$	$26,4 \pm 3,8$
Гормонорезистентные	5	6	2
Гормонозависимые	3	4	3

достоверно снизился и сохраняется до настоящего времени в среднем на уровне $72,2 \pm 10,6$ ($p < 0,001$).

В группе больных, получавших стандартную терапию ГКС, через 2 месяца терапии клиническая ремиссия достигнута у 12 больных, у 3 больных — с заживлением слизистой оболочки кишки. Через 6 месяцев клиничко-эндоскопическая ремиссия сохранялась у 4 больных (21,0%), клиническая — у 8 (42,1%), рецидив болезни Крона произошел у 7 больных (36,9%). За год наблюдения больных в данной группе результаты терапии выглядели следующим образом: клиничко-эндоскопическая ремиссия сохранялась у двух больных (10,5%), клиническая ремиссия — у 7 (36,9%), в связи с рецидивом заболевания на высокие дозы ГКС и иммуносупрессоры были переведены 5 (26,3%) больных и 5 (26,3%) — на терапию инфликсимабом.

Воспалительный процесс при БК возникает в подслизистой основе кишки, где формируются инфильтраты, создающие своеобразный неровный рельеф слизистой оболочки пораженной кишки, напоминающий «булыжную мостовую». Особенности гранулематозного колита (гранулематозное воспаление толстой кишки) включает: неравномерность и асимметрию поражения, дискретные, продольно ориентированные язвы, феномен «булыжной мостовой», преимущественно правостороннюю локализацию, отсутствие в большинстве случаев изменений в прямой кишке, частое формирование абсцессов и свищей (при трансмуральном воспалении), частое утолщение кишечной стенки (подслизистый фиброз) с образованием стриктур, возможно одновременное наличие всех фаз воспалительного процесса (рис. 1 см. на цветной вклейке).

В группе больных, которым проведена терапия инфликсимабом ($n = 15$), через 6 недель после введения Ремикейдом® положительная динамика отмечена у всех больных — уменьшение или исчезновение болевого синдрома, уменьшение частоты стула. Через 8 недель боль в животе сохранялась у 1 больной, стул не более 2–3 раз в сутки — у 4 больных. Индекс активности снизился к концу 8-й недели на 58–106 пунктов у 4 больных и на 50 пунктов — у 1 больной. Таким образом, у подавляющего большинства больных в течение 8 недель была достигнута положительная динамика. Через 14 и 24 недели от начала

терапии Ремикейдом® у 4 больных индекс активности снизился до 150 и менее, у них же в течение года отмечается ремиссия, поддерживаемая 5-АСК (Пентаса®). За 36 месяцев наблюдения индекс Беста в данной группе больных достоверно снизился и сохраняется до настоящего времени в среднем на уровне $67,2 \pm 5,5$ ($p < 0,001$). У одной больной индекс Беста после года терапии составил 188, то есть полной ремиссии достигнуть не удалось. В связи с этим больная продолжает получать метипред в дозе 12 мг/сут и азатиоприн 100 мг/сут. Побочных эффектов не было отмечено ни в одном случае. Динамика индекса Беста по группам больных за 24 месяца наблюдения представлена в табл. 5.

При гистологическом исследовании в инфильтратах можно видеть гранулемы, состоящие из скоплений лимфоцитов, в центре которых находятся гигантские клетки типа Пирогова — Лангханса. В отличие от туберкулезных гранул при БК никогда не образуются очаги казеозного некроза. Гранулемы находят приблизительно в 30–40% при гистологическом исследовании биопсийного материала. Присутствие гранул патогномично для БК, но их отсутствие не дает оснований для ее исключения. Гистологическое исследование позволяет видеть выраженную инфильтрацию собственной пластинки слизистой оболочки кишки и подслизистой основы лимфоидными клетками, толстостенные сосуды с явлениями васкулита. Инфильтрация распространяется как на слизистую, так и на серозную оболочку кишечной стенки (рис. 2 см. на цветной вклейке). В результате кишечная стенка становится плотной, слизистая оболочка приобретает неровный рельеф, на ее поверхности образуются множественные эрозии и язвы наподобие трещин, пронизывающие всю кишечную стенку. Иногда язвы перфорируют, что приводит к формированию межкишечных свищей. Благодаря достижениям биологической терапии болезни Крона достигнута одна из целей лечения заболевания — заживление слизистой оболочки кишки. Через 2 месяца после трансплантации МСК отмечается заживление глубоких язвенных дефектов слизистой

Таблица 5

ДИНАМИКА ИНДЕКСА БЕСТА У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА НА ПРОТЯЖЕНИИ 36 МЕСЯЦЕВ					
Группа	Исходный индекс Беста (CDAI) ($M \pm m$)	6 месяцев	12 месяцев	24 месяца	36 месяцев
МСК	$246,6 \pm 12,2$	$70,45 \pm 8,6^*$	$61,7 \pm 5,0^*$	$65,3 \pm 8,1^*$	$72,2 \pm 10,6^*$
ИНФЛ	$265,5 \pm 14,6$	$46,8 \pm 4,5^*$	$50,8 \pm 6,3^*$	$62,5 \pm 5,1^*$	$67,2 \pm 5,5^*$
ГКС	$234,3 \pm 10,9$	$62,5 \pm 5,2^*$	$103,9 \pm 13,2^*$	$135,5 \pm 20,0^*$	$146,8 \pm 22,6^*$

Примечание: * $p < 0,05$ между исходным индексом Беста и через 6, 12, 24 и 36 месяцев; $p = 0,327$ между МСК и ИНФЛ через 12 месяцев, $p = 0,249$ между МСК и ИНФЛ через 24 месяца терапии; $p = 0,106$ между МСК и ИНФЛ через 36 месяцев терапии.

кишки, свищей и уменьшение степени патогистологической активности воспаления (рис. 3, 4 см. на цветной вклейке).

Для оценки активности воспалительного процесса в в слизистой оболочке толстой кишки (СОТК) мы использовали шкалу Гебса. До трансплантации МСК в 1-й группе больных БК индекс Гебса составил $4,1 \pm 0,3$. Во 2-й группе — $4,2 \pm 0,16$, в 3-й — $4,6 \pm 0,16$. Степень патогистологической активности БК у больных, которым начата терапия инфликсимабом, была несколько выше. Через 2 месяца у пациентов 1-й группы индекс Гебса составил $1,2 \pm 0,03$, во 2-й группе — $1,3 \pm 0,1$, в 3-й — $1,3 \pm 0,1$. Через 12 месяцев наблюдения индекс Гебса у больных, которым осуществлена трансплантация МСК и которые получали терапию инфликсимабом, составил $1,1 \pm 0,02$ и $0,7 \pm 0,1$ соответственно, в то время как у больных, получавших терапию ГКС, он составил $1,4 \pm 0,1$. При сравнении эффективности заживления слизистой оболочки кишки было установлено, что биологическая терапия моноклональными антителами и комплексная терапия с применением МСК ($p = 0,98$) наиболее эффективна и составляет 64–70% по сравнению со стандартной терапией (28%) ($p < 0,05$).

Для оценки стабильности ремиссии у больных, которые получали МСК и терапию инфликсимабом, использовали процедуру Каплана — Мейера, сравнивающую методы лечения. При сравнении двух кривых выживаемости (стабильность ремиссии) у пациентов с болезнью Крона, которые получали комплексную терапию с введением МСК ($n = 20$), и у больных, которым проведена терапия инфликсимабом ($n = 15$), различий выявлено не было ($p = 0,863$) (рис. 6). Средняя продолжительность ремиссии в группе МСК за время наблюдения составила $20,6 \pm 1,4$ месяца, в группе ИНФЛ — $22,8 \pm 1,6$ месяца. Есть значимое различие в группах больных, которым проведена трансплантация МСК и которым проводится терапия ГКС ($n = 20$) ($p = 0,001$) (рис. 5). Продолжительность ремиссии у больных, которым проведена трансплантация МСК, составила $20,6 \pm 1,4$, а в группе получающих стандартную терапию ГКС — $10,0 \pm 0,5$ месяца.

Таким образом, продолжительность ремиссии зависит от выбранной терапии болезни Крона: более длительная ремиссия зарегистрирована у больных, которым проведена системная трансплантация аллогенных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга и у больных, которым проводилась терапия Ремикейдом®. Оба метода биологической терапии сопоставимы по конечному результату.

Сравнивая терапевтическую эффективность инфликсимаба и системной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток у больных с непрерывным течением и рефрактерной формой болезни Крона, выяснилось, что оба метода позволяют достичь клинической и, в некоторых случаях, эндоскопической ремиссии, сохранение клинической ремиссии достигается в большинстве случаев

без стероидов. В двух группах больных — 1-й и 2-й ($n = 35$) — гормонозависимость и гормонорезистентность была у 8 больных (22,8%) в 1-й и у 10 (28,5%) — во 2-й.

У 5 больных с гормонозависимостью и гормонорезистентностью первой группы в течение 2 месяцев наблюдения удалось постепенно полностью отменить глюкокортикостероиды. Поддерживающую терапию осуществляли препаратами 5-АСК (сульфасалазин или месалазин) и пробиотиками. У 2 больных дозу преднизолона постепенно снизили до 5 мг/сут, но у 1 пациента в связи с развившимся рецидивом она была вновь увеличена. Во 2-й группе больных дозу ГКС также удалось снизить, а затем полностью отменить у 8 больных из 10 с гормонозависимостью и гормонорезистентностью. Больные 3-й группы на протяжении всего периода наблюдения продолжали получать преднизолон в дозе от 10 до 15 мг/сут и азатиоприн от 100 до 150 мг/сут. Через 12 месяцев ремиссия сохранялась у 16 больных в 1-й группе, при этом гормонозависимость и гормонорезистентность была преодолена у 6 больных из 8, что составило 80% больных данной группы. Проводимая терапия инфликсимабом позволила полностью отказаться от ГКС 8 больным из 10 с гормонозависимостью и гормонорезистентностью.

Эпизодические инфузии ИНФЛ в большинстве случаев — до 61% — приводят к образованию антител к ИНФЛ (АИНФЛ). У части пациентов регулярные инфузии ИНФЛ также могут привести к образованию антител к ИНФЛ — до 26% случаев. Несмотря на комбинированную терапию с использованием иммуносупрессоров, у ряда больных отмечается образование антител к инфликсимабу при болезни Крона. Повышенный уровень АИНФЛ может приводить к инфузионным реакциям, уменьшению эффективности и продолжительности ответа от данной терапии.

Через год у 4 (26,6%) больных БК определялись антитела к ИНФЛ от 165 до 314 нг/мл, в среднем $235,5 \pm 37,5$ нг/мл. У данных больных повышение уровня АИНФЛ сопровождалось ухудшением клинической картины — появление болевого синдрома, увеличение частоты стула, снижение уровня гемоглобина. Индекс Беста в среднем повысился со $103,9 \pm 13,2$ до $135,2 \pm 15,0$ ($p > 0,05$). Больным осуществлена однократная системная трансплантация аллогенных МСК костного мозга с целью повышения эффективности проводимой противовоспалительной терапии. Через 4 недели уровень АИНФЛ у всех четверых больных снизился до 7–15 нг/мл, в среднем $8,5 \pm 2,2$ нг/мл ($p < 0,001$). Данное снижение сопровождалось уменьшением активности БК (снижение индекса Беста до $68,5 \pm 4,6$). Таким образом, трансплантация аллогенных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга снижает уровень антител к инфликсимабу у больных болезнью Крона, способствуя повышению эффективности терапии инфликсимабом.

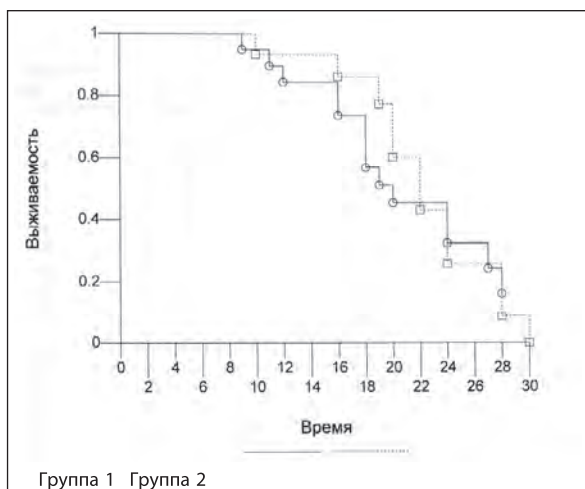


Рис. 5. Кривая Каплана — Мейера (месяцы) до обострения болезни Крона; для терапии в комбинации с трансплантацией МСК и терапии инфликсимабом

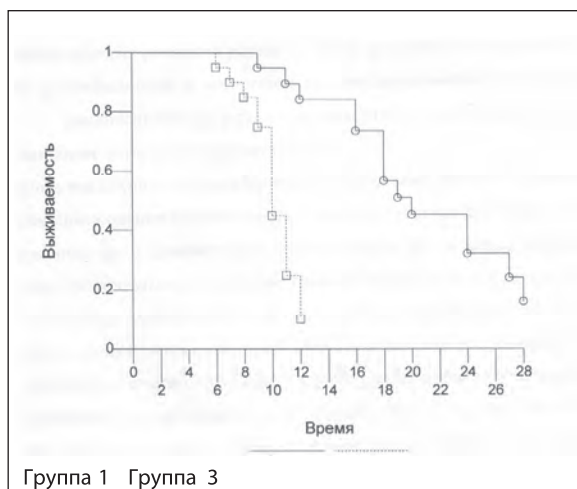


Рис. 6. Кривая Каплана — Мейера (месяцев) до обострения болезни Крона; для терапии в комбинации с трансплантацией МСК и терапией глюкокортикоидами/иммуносупрессорами

Болезнь Крона и язвенный колит могут стать причиной ряда серьезных осложнений, некоторые из которых могут быть опасными для жизни. Болезнь Крона может стать причиной развития **кишечной непроходимости**, изъязвления и перфорации кишки, формированию свищей, трещин, абсцессов. Необходимо отметить, что больные, длительно страдающие ВЗК, относятся к группе повышенного риска в отношении онкологических заболеваний кишечника. Факторы риска для пациентов с болезнью Крона, судя по всему, похожи, но не были так хорошо изучены, как факторы при язвенном колите. Установлено, что этот риск повышается в зависимости от длительности заболевания и протяженности поврежденных участков кишечника. Считается, что для пациентов с язвенным колитом, болеющих более 10 лет, вероятность возникновения рака возрастает ежегодно на 0,5%. Для пациентов с болезнью Крона оценки аналогичные. По мере увеличения площади пораженного участка слизистой кишки растет и вероятность развития рака.

Применение новых медицинских технологий согласно Приказу МЗиСР РФ от 20 июля 2007 года № 488 [50] классифицируется в зависимости от степени потенциального риска применения в медицинских целях по трем классам. Клеточная терапия является медицинской технологией третьего класса. К данному классу относятся медицинские технологии с высокой степенью риска, включающие в себя методики, оказывающие прямое (хирургическое) воздействие на органы и ткани организма (за исключением медицинских технологий, относящихся ко 2-му классу); пластические реконструктивные операции; медицинские технологии, связанные с использованием клеточных технологий и генных манипуляций, трансплантации органов и тканей. Однако FDA (Агентство по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами США) признало трансплантацию МСК безопасной медицинской процедурой [51].

Учитывая вышеизложенные положения, данной группе больных в период ремиссии необходимо проводить контрольные эндоскопические (КС не менее 1 раза в год, РРС 4 раза в год) и рентгенологические исследования кишки. Только во время колоноскопии можно оценить степень прогрессирования болезни, активность воспаления. Нами проводится множественная лестничная биопсия. Однако даже при множественной биопсии мы не можем с полной уверенностью исключить наличие онкологического процесса. Помимо инвазивных методов ранней диагностики рака мы используем ежемесячное исследование уровня онкомаркеров СА 242 и СА 19-9. Определение уровня онкомаркеров позволяет выявить группы повышенного риска развития рака. За 36 месяцев у больных, которым проведена трансплантация МСК, ни в одном случае не было зарегистрировано повышения уровня онкомаркеров выше 10 Ед/мл (в среднем для СА 242 он составил $4,8 \pm 0,17$ Ед/л, для СА 19-9 — $4,96 \pm 0,16$ Ед/л), а также злокачественной трансформации ВЗК.

Безусловно, изложенные в настоящей работе результаты можно назвать пока предварительными, они требуют обсуждения, дальнейшего накопления и изучения, но они вселяют оптимизм, и поэтому исследование влияния трансплантированных МСК костного мозга на течение болезни Крона должно быть продолжено. Трансплантация МСК является безопасным и эффективным методом лечения и может использоваться в комплексной терапии больных ВЗК, поскольку стволовые клетки костного мозга могут быть получены в достаточном количестве путем повторной аспирации костного мозга, а их количество можно увеличивать *in vitro*. В большинстве исследований показано, что МСК улучшают клинические и микроскопические проявления колита, уменьшает системную и локальную, связанную со слизистой оболочкой кишечника, продукцию провоспалительных цитокинов. МСК могут

направленно двигаться в область воспаления и подавлять воспалительный процесс, одновременно стимулируя регенерацию ткани. Аллогенная трансплантация МСК чаще заканчивается долгосрочной ремиссией аутоиммунного заболевания, нежели аутологичная, возможно, вследствие способности трансплантируемого материала к нормальному воссозданию иммунной системы или способностью иммунной системы, произведенной донорскими клетками, развивать реакцию трансплантата против аутоиммунных клеток. Трансплантация МСК не требует проведения иммуносупрессии не до, не после проведения терапии.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что внедрение современных методов

биологической терапии ВЗК — применение моноклональных антител, проведение трансплантации МСК — способствует не только быстрому купированию атаки заболевания и увеличению продолжительности ремиссии, тем самым повышая эффективность лечения этих заболеваний, но и позволяет помочь преодолеть рефрактерность к стероидам. Методы биологической терапии также позволяют достичь клинической и эндоскопической ремиссии у больных, не ответивших на стандартные средства, включая иммуносупрессивные. Биологическая терапия мезенхимальными стромальными клетками костного мозга может рассматриваться как перспективный метод комплексной терапии рефрактерных форм болезни Крона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев Г.И., Халиф И.Л. Неспецифические воспалительные заболевания кишечника. — М.: Миклош, 2008. — 422 с.
2. Faubion W. A., Loftus E. V., Harmsen W. S. et al. The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population based study // *Gastroenterology*. — 2001. — Vol. 121. — P. 255–260.
3. Furst D. E., Breedveld F. C., Kalden J. R. et al. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases, 2007 // *Ann. Rheum. Dis.* — 2007. — Vol. 65, Suppl. III. — iii² — iii22.
4. Pincus T., Yazici Y., van Vollenhoven R. Why are only 50% of courses of anti — tumor necrosis factor agents continued for only 2 years in some setting? Need for long-term observations in standard care to complement clinical trials // *J. Rheumatol.* — 2006. — Vol. 33. — P. 2372–2375.
5. Wintrop K. L. Risk and prevention of tuberculosis and other serious opportunistic infections associated with the inhibition of tumor necrosis factor // *Nature Clin. Pract. Rheumatol.* — 2006. — Vol. 2. — P. 602–610.
6. Bosani M., Ardizzone S., Gabriele Bianchi Porro. Biologic targeting in the treatment of inflammatory bowel diseases. — Milan, Italy: University Hospital // *Biologics: Targets & Therapy*. — 2009. — Vol. 3. — P. 77–97.
7. Dryden W. Overview of stem cell therapy for Crohn's disease, Division of Gastroenterology, Department of Medicine Gerald, USA // *Expert Opin. Biol. Ther.* — 2009. — Vol. 9, № 7. — P. 841–847.
8. Maximow A. Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. (Demonstrationsvortrag, gehalten in der ausserordentlichen Sitzung der Berliner Hämatologischen Gesellschaft am 1. Juni 1909) // *Folia Haematologica*. — 1909. — Vol. 8. — P. 125–134.
9. Friedenstein A. J., Piatetzky S., Petrakova K. V. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells // *J. Embryol. Exp. Morphol.* — 1966. — Vol. 16. — P. 381–390.
10. Friedenstein A. J., Chailikhyan R. K., Gerasimov U. V. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers // *Cell Tissue Kinet.* — 1987. — Vol. 20, № 3. — P. 263–272.
11. Friedenstein A. J., Gorskaja U. F., Kulagina N. N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs // *Exp. Hematol.* — 1976. — Vol. 4, № 5. — P. 267–274.
12. Caplan A. I., Bruder S. P. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century // *Trends Mol. Med.* — 2001. — Vol. 7. — P. 259–264.
13. Caplan A. I. Mesenchymal stem cells // *J. Orthotop. Res.* — 1991. — Vol. 9, № 5. — P. 641–650.
14. Friedenstein A. J., Latzinik N. W., Grosheva A. G., Gorskaya U. F. Marrow microenvironment transfer by heterotopic transplantation of freshly isolated and cultured cells in porous sponges // *Exp. Hematol.* — 1982. — Vol. 10, № 2. — P. 217–227.
15. Шумаков В. И., Онищенко Н. А., Крашенинников М. Е. и др. Дифференцировка стромальных стволовых клеток костного мозга в кардиомиоцитоподобные клетки у различных видов млекопитающих // *Бюлл. эксперим. биол. мед.* — 2003. — № 4. — С. 461–465.
16. Шумаков В. И., Казаков Э. Н., Онищенко Н. А. и др. Первый опыт клинического применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для восстановления сократительной функции миокарда // *Рос. кардиол. журн.* — 2003. — № 5. — С. 42–50.
17. Шумаков В. И., Онищенко Н. А., Крашенинников М. Е. и др. Дифференцировка костномозговых стромальных стволовых клеток в кардиомиоцито-подобные клетки у различных видов млекопитающих // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* — 2003. — Т. 135, № 4. — С. 393–396.
18. Makino S., Fukuda K., Miyoshi S. et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells *in vitro* // *J. Clin. Invest.* — 1999. — Vol. 103. — P. 697–705.
19. Oswald J., Boxberger S., Jorgensen B. et al. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells *in vitro* // *Stem. Cells*. — 2004. — Vol. 22. — P. 377–384.
20. Woodbury D., Schwarz E. J., Prockop D. J., Black I. B. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons // *J. Neurosci. Res.* — 2000. — Vol. 61. — P. 364–370.
21. Francois S., Bensidhoum M., Mouisseddine M. et al. Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed sites but promotes their widespread engraftment to multiple organs: a study of their quantitative distribution after irradiation damage // *Stem. Cells*. — 2006. — Vol. 24, № 4. — P. 1020–1029.
22. Matsumoto T., Okamoto R., Yajima et al. Increase of bone marrow-derived secretory lineage epithelial cells during regeneration in the human intestine // *Gastroenterology*. — 2005. — Vol. 128. — P. 1851–1867.
23. Semont A., Francois S., Mouisseddine M. et al. Mesenchymal stem cells increase self-renewal of small intestinal epithelium and accelerate structural recovery after radiation injury // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2006. — Vol. 585. — P. 19–30.
24. Tyndall R. Saccardi (Department of Rheumatology, University Hospital Basle, Basle, Switzerland and Department of Haematology, Ospedale di Careggi, Florence, Italy) Haematopoietic stem cell transplantation in the treatment of severe autoimmune disease: results from phase I/II studies, prospective randomized trials and future directions // *Clin. Exp. Immunol.* — 2005. — Vol. 141, № 1. — P. 1–9.
25. Meisel R., Zibert A., Laryea M. et al. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indolamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation // *Blood*. — 2004. — Vol. 103. — P. 4619–4621.
26. Rabinovitch A., Suarez-Pinzon W. L. Role of cytokines in the pathogenesis of autoimmune diabetes mellitus // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* — 2003. — Vol. 4, № 3. — P. 291–299.
27. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E. et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions // *Blood*. — 2006. — Vol. 107. — P. 367–372.
28. Sotiropoulou P. A., Perez S. A., Gritzapis A. D. et al. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells // *Stem. Cells*. — 2006. — Vol. 24, № 1. — P. 74–84.
29. Zhang W., Ge W., Li C., You S. et al. Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells // *Stem. Cells Dev.* — 2004. — Vol. 13. — P. 263–271.
30. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E. et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions // *Blood*. — 2006. — Vol. 107. — P. 367–372.
31. Le Blanc, K. et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells // *Exp. Hematol.* — 2003. — Vol. 31. — P. 890–896.
32. Majumdar M. et al. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells // *J. Biomed. Sci.* — 2003. — Vol. 10. — P. 228–241.
33. Schwartz R. H. A cell culture model for T lymphocyte clonal anergy // *Science*. — 1990. — Vol. 248. — P. 1349–1356.

34. Drakos P. E., Nagler A., Or R. Case of Crohn's disease in bone marrow transplantation // *Am. J. Hematol.* — 1993. — Vol. 43. — P. 157–158.
35. Ditschkowski M., Einsele H., Schwerdtfeger R. et al. Improvement of inflammatory bowel disease after allogeneic stem cell transplantation // *Transplantation.* — 2003. — Vol. 75. — P. 1745–1747.
36. Hawkey C. J. Stem cell transplantation for Crohn's disease. *Best Pract Res Clin Haematol.* — 2004. — Vol. 17, № 2. — P. 317–325.
37. Oyama R., Craig R. M., Traynor A. E. et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory Crohn's disease // *Gastroenterology.* — 2005. — Vol. 128. — P. 552–563.
38. Duijvestein M., Verwey M. H., Fidder H. H. et al. Autologous mesenchymal stem cell therapy in patients with refractory Crohn's disease // *J. Crohns Colitis.* — 2009. — Vol. 3, № 1. — P. S46–47.
39. Duijvestein M., Vos A. C., Roelofs H. et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study // *Gut.* — 2010. — Vol. 59, № 12. — P. 1662–1669.
40. Garcia-Olmo D., Garcia-Arranz M., Herreros D. et al. A Phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fi stula by adipose mesenchymal stem cell transplantation // *Dis. Colon Rectum.* — 2005. — Vol. 48, № 7. — P. 1416–1423.
41. Garcia-Olmo D., Herreros D., Pascual I. et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fi stula: a Phase II clinical trial // *Dis. Colon. Rectum.* — 2009. — Vol. 52, № 1. — P. 79–86.
42. Houghton J., Stoicov C., Nomura S. et al. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells // *Science.* — 2004. — Vol. 306, № 5701. — P. 1568–1571.
43. Hawkey C. J. Stem cell transplantation for Crohn's disease // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* — 2004. — Vol. 17, № 2. — P. 317–325.
44. Krisner J. B. «Nonspecific» inflammatory bowel disease (ulcerative colitis and Crohn's disease) after 100 years — what next? // *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* — 1999. — Vol. 31. — P. 651–658.
45. Oyama Y., Traynor A. E., Barr W., Burt R. K. Allogeneic stem cell transplantation for autoimmune diseases: nonmyeloablative conditioning regimens // *Bone Marrow Transplant.* — 2003. — Vol. 32, Suppl. 1. — P. S81–83.
46. Болезнь Крона (диагностика и лечение): Методические рекомендации. — СПб.: Наука и техника, 2007. — С. 12.
47. Rutgeerts P., D'Haens G., Targan S. et al. Efficacy and safety of retreatment with anti-tumor necrosis factor antibody (infliximab) to maintain remission in Crohn's disease // *Gastroenterology.* — 1999. — Vol. 117. — P. 761–769.
48. Sandborn W. J., Colombel J. F., Enns R. et al. Natalizumab induction and maintenance therapy for Crohn's disease // *N. Engl. J. Med.* — 2005. — Vol. 353. — P. 1912–1925.
49. Geboes K., Riddel R., Jensfelt B. et al. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis // *Gut.* — 2000. — Vol. 47. — P. 404–409.
50. Приказ МЗиСР РФ от 20 июля 2007 г. № 488 (Зарегистрировано в Минюсте РФ 01.08.2007 № 9938).
51. Parekkadan B., Milwid M. J. Mesenchymal stem cells as therapeutics // *Ann. Rev. Biomed. Engineering.* — 2010. — Vol. 12. — P. 87–117.

