

Стволовые мезенхимальные клетки костного мозга в лечении язвенного колита по данным морфологических и иммунологических исследований (литературный обзор)

В. С. Рахметова, А. Б. Оразбаева, А. Е. Амренова

Национальный научный медицинский центр, Астана, Казахстан

Ключевые слова: язвенный колит, мезенхимальные стволовые клетки, трансплантация, регенеративная медицина, клинические исследования

Язвенный колит (ЯК) представляет собой одну из наиболее сложных и нерешенных проблем современной гастроэнтерологии. Последнее десятилетие отмечается постоянным ростом заболеваемости этой патологией в мире [8].

По данным Республиканского центра развития здравоохранения Республики Казахстан, по источникам автоматизированной информационной системы «Поликлиника», в Казахстане за период только 7 месяцев 2017 г. на диспансерном учете состоят 858 пациентов с ЯК.

Актуальность патологии подтверждается ростом заболеваемости среди лиц трудоспособного возраста, развитием угрожающих жизни осложнений, необходимостью проведения длительной, часто пожизненной, дорогостоящей терапии [7, 10].

В условиях хронического воспалительного процесса во всех органах иммунной системы (костный мозг, тимус, селезенка) наступают глубокие морфофункциональные изменения, которые характеризуются развитием вторичного иммунодефицитного состояния с ослаблением клеточного и гуморального иммунитета, цитокиновым дисбалансом, перераспределением иммунных клеток в организме и нарушением их информационной и миграционной активности. Дисбаланс в системе иммунной регуляции ведет к нарушению морфорегуляторных функций лимфоидной ткани, следствием чего является нарушение процессов регенерации [2].

Несмотря на достижения современных методов терапии ЯК, поиск новых методов лечения больных ЯК остается актуальным. Перспективной терапевтической стратегией для лечения воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) в последнее время стало применение стволовых клеток (СК) в комплексной терапии ВЗК. В настоящее время лечение СК не является частью стандартной медицинской помощи и,

как правило, выполняется только в рамках клинических испытаний.

Для терапии ВЗК используются мезенхимальные СК (МСК), которые обладают иммуномодулирующими, противовоспалительными свойствами и большим регенераторным потенциалом, что и делает их привлекательными для клинического применения [9]. Терапия СК может быть проведена либо аутологичными клетками, т. е. введением клеточного материала в тот же организм, из которого они были выделены, либо аллогенными клетками, т. е. когда донором является другое лицо.

По данным международного реестра клинических исследований Национального института здоровья США ClinicalTrials.gov в 2016 г. зарегистрировано 26 исследований с использованием МСК при ВЗК, из которых в 23 исследованиях применяли аутологичные и аллогенные МСК при болезни Крона, а в 3 исследованиях при ЯК использовались аллогенные клетки. Во всех трех исследованиях при ЯК с общим количеством 118 пациентов отмечалось снижение медианного показателя Мейо и улучшение морфологических данных [6].

Исследование Л. Б. Лазебника и соавт. (2008), включающее применение аллогенных МСК в комплексной терапии одного больного с ЯК, тотальным поражением, гормонозависимой формой с умеренной активностью, показало отсутствие эффекта от проводимой стандартной терапии с использованием метипреда 40 мг/сут, преднизолона 60 мг/сут местно в микроклизмах, азатиоприна 150 мг/сут, в связи с чем было принято решение о трансплантации МСК. Через 2 месяца после системной трансплантации аллогенных МСК у больного отмечен положительный клинический эффект: улучшение общего состояния, урежение частоты стула до 1–2 раз в сутки, улучшение его консистенции, значительное уменьшение

проявлений, а в последующем купирование болевого синдрома, исчезновение слабости и недомогания, нормализация температуры тела, увеличение массы тела на 5 кг. Индекс клинической активности ЯК снизился до 0. В течение этого периода были полностью по схеме отменены глюкокортикостероиды (ГКС). В результате индекс эндоскопической активности составил 1, гистологическое исследование показало значительную положительную динамику. Выводом исследования явилось заключение о том, что донорские МСК обеспечивали как репаративный потенциал слизистой оболочки толстой кишки, так и противовоспалительный эффект, позволивший отменить азатиоприн, ГКС и 5-аминосалициловую кислоту (5-АСК), кроме того в статье отмечена безопасность данной терапии [5].

В другом исследовании Л. Б. Лазебника и соавт. проводившемся в течении двух лет с февраля 2008 г. по март 2010 г., наблюдали три группы больных ЯК: 40 пациентов, получавших стандартную терапию препаратами 5-АСК, ГКС (2-я группа), 44 больных (1-я группа), которым дополнительно осуществляли системную трансплантацию аллогенных МСК, выращенных в культуре, и 12 больных, которым проведена индукционная и поддерживающая терапия инфликсимабом (3-я группа). По данным морфологического исследования, микроскопически воспалительные изменения при ЯК локализовались в слизистой оболочке и подслизистом слое — были инфильтрированы плазматическими клетками и лимфоцитами, отмечалось наличие крипт-абсцессов, микроэрозий и изъязвлений, расширение кровеносных сосудов, набухание эндотелия, тяжи грануляционной ткани. В фазе обострения ЯК в слизистой оболочке также отмечалось расширение капилляров и геморрагии, образование язв в результате некроза эпителия, деструкция крипт и формирование крипт-абсцесса, уменьшение количества бокаловидных клеток, инфильтрация lamina propria лимфоцитами, плазматическими клетками, нейтрофилами и эозинофилами.

Через 2 месяца трансплантация МСК достоверно приводит к снижению индекса Гебса до $0,7 \pm 0,1$ по сравнению с группой больных, получающих терапию препаратами 5-АСК/ГКС, — $1,0 \pm 0,1$ ($p < 0,05$), и сопоставима по эффективности с терапией инфликсимабом, при которой индекс Гебса составил $0,66 \pm 0,16$. Через 12 месяцев индекс Гебса в 1-й группе остается на прежнем уровне — $1,0 \pm 0,1$, в то время как во 2-й группе индекс Гебса увеличивается более чем в полтора раза — до $1,2 \pm 0,02$, в 3-й группе больных, получающих инфликсимаб, степень воспаления слизистой оболочки по шкале Гебса — $0,6 \pm 0,18$. Микроскопически отмечались гиперплазия бокаловидных клеток, расщепление крипт, появление большого количества бокаловидных клеток среди клеток поверхностного эпителия. Полученные данные гистологической картины слизистой оболочки толстой кишки свидетельствуют о том, что МСК обладают высокой пролиферативной активностью и большим репаративным потенциалом. В исследовании пациентам также определяли влияние клеток на иммунную

систему: системная однократная пересадка МСК у них вызывала достоверное повышение изначально сниженного уровня цитокинов в среднем с 11,4 до 23,6 пг/мл, в то же время трансплантация МСК у больных в остром периоде вызывала достоверное снижение уровня провоспалительных цитокинов. Через 6 и 12 месяцев после введения МСК отмечается достоверный рост противовоспалительных цитокинов — трансформирующего фактора роста 1 α , интерлейкина (ИЛ) 4, ИЛ-10 и снижение — провоспалительных цитокинов интерферона γ , фактора некроза опухоли (ФНО) α , ИЛ-1 β , что свидетельствует о регуляторных свойствах МСК и готовности их к индукции восстановительных (репаративных) процессов. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови больных ЯК до введения МСК и спустя 2, 6 и 12 месяцев соответственно составило: IgG — 11,2–14,8–12,8–11,8 г/л; IgM — 0,9–2,2–1,6–1,1 г/л; IgA — 1,82–3,8–2,6–1,5 г/л (норма: IgM — 1,3 г/л; IgG — 13,0 г/л; IgA — 2,3 г/л) ($p < 0,05$). Наиболее существенно возрастала концентрация IgA ($p < 0,05$), опосредующего местный гуморальный иммунный ответ. Мы проанализировали уровень иммуноглобулинов G, A, M в двух группах больных в зависимости от эффекта проведенной трансплантации МСК костного мозга — у больных с выраженным положительным клиническим эффектом и у больных, у которых эффекта от введения МСК не было или он был непродолжительным. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови до введения МСК в группе больных, где трансплантация имела положительный эффект ($n=32$), составило: IgM — $(1,5 \pm 0,04)$ г/л, IgG — $(12,5 \pm 0,71)$ г/л, IgA — $(2,2 \pm 0,8)$ г/л. В группе больных ($n=12$), где эффект был непродолжительный, исходный уровень иммуноглобулинов составил: IgG — $(8,8 \pm 0,9)$ г/л, IgM — $(1,3 \pm 0,01)$ г/л, IgA — $(0,9 \pm 0,01)$ г/л ($p < 0,05$). Динамика показателей гуморального иммунитета и цитокинового статуса через 2 месяца после трансплантации так же существенно отличалась в этих двух группах. В группе больных ($n=12$), где эффект был непродолжительный, уровень иммуноглобулинов составил: IgG — $(7,3 \pm 0,2)$ г/л, IgM — $(1,4 \pm 0,01)$ г/л, IgA — $(1,0 \pm 0,01)$ г/л ($p < 0,05$), в группе с положительным эффектом ($n=30$) IgG — $(18,5 \pm 0,9)$ г/л, IgM — $(2,5 \pm 0,1)$ г/л, IgA — $(2,1 \pm 0,8)$ г/л. В группе больных, где трансплантация была эффективна, уровень провоспалительных цитокинов оказался достоверно ниже, а противовоспалительных цитокинов — выше через 2 месяца по сравнению с группой, где эффекта от данной терапии не было. Показатели в группе с эффективной трансплантацией составили: ФНО- α $(12,9 \pm 1,3)$ пг/мл, ИЛ-1 β — $(8,7 \pm 0,4)$ пг/мл, ИЛ-4 — $(40,1 \pm 2,5)$ пг/мл; в сравнении с ФНО- α — $(22,3 \pm 1,1)$ пг/мл, ИЛ-1 β — $(14,2 \pm 0,2)$ пг/мл, ИЛ-4 — $(14,6 \pm 2,4)$ пг/мл в группе без эффекта, соответственно. По мнению авторов, данные изменения подтверждают концепцию о том, что трансплантация МСК наиболее эффективна на ранних стадиях заболевания, а не в более поздние сроки, когда собственные иммунные резервы организма истощены прогрессирующим аутоиммунным процессом и длительным

приемом иммуносупрессоров. Согласно данным исследованиям, при ЯК преобладала повышенная циркуляция (18–92 ед/мл, в контроле — 10 ед/мл) аутоантител IgG к антигенам цитоплазмы нейтрофилов — протеиназе, лактофerrину, миелопероксидазе, VP1, реже — к эластазе нейтрофилов. Системное введение МСК вызывало снижение изначально повышенной концентрации аутоантител к нейтрофилам (IgG-VP1) в среднем от 42,6 до 12,4 ед/мл, что подтверждало снижение активности воспалительного процесса в кишечнике, в то время как стандартная терапия не влияла на уровень аутоантител к нейтрофилам, в течение 12 месяцев наблюдения их концентрация сохранялась на уровне 38,4–42,2 ед/мл.

Таким образом, авторами показано, что введение МСК стимулирует угнетенный синтез цитокинов, впоследствии снижая уровень провоспалительных цитокинов и повышая рост противовоспалительных цитокинов, снижает интенсивность иммунопатологических процессов при ЯК, что одновременно сочетается с положительной динамикой клинической и эндоскопической картины заболевания. Системная трансплантация аллогенных МСК оказывает разнонаправленный регулирующий эффект на воспалительный процесс: стимулирует функциональную активность угнетенной иммунной системы, увеличивая уровень изначально сниженных иммуноглобулинов, а также про- и противовоспалительных цитокинов ФНО- α и интерферона γ , ИЛ-1. В динамике МСК повышает уровень противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10; снижает интенсивность аутоиммунных реакций и активность иммунопатологических процессов, снижая в течение 12 месяцев увеличенное содержание аутоантител к антигенам цитоплазмы нейтрофилов (IgG-VP1). Трансплантация аллогенных МСК костного мозга способствует повышению эффективности комплексной противовоспалительной терапии ЯК [1].

В проведенном О. В. Князевым и соавт. исследовании сравнивались результаты лечения двух групп больных с острой атакой ЯК, получающих стандартную терапию и терапию с применением культуры аллогенных МСК. Первая группа больных ЯК (n=12) помимо стандартной противовоспалительной терапии получила культуру МСК по схеме 0–1–26 недель,

затем, в последующие годы наблюдения, каждые 6 месяцев. Вторая группа больных (n=10) получала стандартную противовоспалительную терапию препаратами 5-АСК и ГКС. Тяжесть ЯК оценивали по критериям S. C. Truelove и L. J. Witts (1955), дополненным Е. А. Белоусовой (2002) [3].

По результатам проводимой работы показано, что МСК улучшают клинические и микроскопические проявления колита, уменьшают системную и локальную продукцию провоспалительных цитокинов, способны направленно двигаться в область воспаления и подавлять воспалительный процесс, одновременно стимулируя регенерацию ткани, способствуют увеличению продолжительности ремиссии заболевания, снижают в 3 раза риск повторной атаки ЯК. Трансплантация МСК в результате может обеспечивать восстановление чувствительности к предварительно неэффективной терапии и может рассматриваться как перспективный метод комплексной терапии острой формы ЯК. Однако, по выводам авторов, одно-двукратное введение МСК не позволяет обеспечить длительное поддержание ремиссии ЯК и требует регулярного введения, частоту которого еще предстоит определить [4].

Таким образом, предварительные результаты проводимых в мире клинических и экспериментальных исследований обосновывают актуальность, перспективность и достаточную безопасность метода трансплантации аллогенных МСК костного мозга для лечения больных ЯК, однако результаты проведенных исследований не до конца определяют механизмы действия МСК костного мозга, не дают ответ на вопрос об оптимальных сроках, путях введения и частоте применения СК. По данным доступного нам литературного обзора, описано использование лишь аллогенных клеток из разных источников (костный мозг, жировая ткань, пуповинная кровь), данные литературы о применении аутологичных МСК при ЯК отсутствуют, что указывает на необходимость проведения дальнейших клинических исследований для определения потенциальных возможностей клеток. Результаты будущих клинических исследований должны способствовать повышению эффективности терапии, т. к. заместительная клеточная терапия может трансформировать медицину будущего.

Литература:

1. Алогенные мезенхимальные стромальные клетки в лечении больных язвенным колитом: два года наблюдения / Л. Б. Лазебник, О. В. Князев, А. Г. Конопляников [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2010. — № 11. — С. 3–15.
2. Бабаева А. Г. Роль иммунной системы в дисрегуляции морфогенетических процессов / А. Г. Бабаева / Дисрегуляторная патология // Под ред. Г. Н. Крыжановского. — М. : Медицина, 2002. — С. 366–385.
3. Белоусова Е. А. Язвенный колит и болезнь Крона / Е. А. Белоусова. — Тверь : Триада, 2002. — 128 с.
4. Применение мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в лечении больных с острой атакой язвенного колита / О. В. Князев, А. В. Каграманова, О. Н. Болдырева [и др.] // Science Rise. — 2015. — Т. 4, № 4 (9). — С. 24–31.
5. Успешное применение алогенных мезенхимальных стволовых клеток у больного с язвенным колитом / Л. Б. Лазебник, О. В. Князев, А. И. Парфенов [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2009. — № 4. — С. 112–115.

6. Clinical trials using mesenchymal stem cells in liver diseases and inflammatory bowel diseases / A. Tsuchiya, Y. Kojima, S. Ikarashi [et al.] // Inflammation and Regeneration. — 2017. — Vol. 37. — P. 16.
7. Disease course and surgery rates in inflammatory bowel disease: a population-based, 7-year follow-up study in the era of immunomodulating therapy / M. Vestler-Andersen, M. Prossberg, T. Jess [et al.] // Am. J. Gastroenterol. — 2014. — Vol. 109, No 5. — P. 705–714.
8. Gazouli M. Stem cells as potential targeted therapy for inflammatory bowel disease / M. Gazouli, M. Roubelakis, G. Theodoropoulos // Inflamm. Bowel Dis. — 2014. — Vol. 20, No 5. — P. 952–955.
9. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis / Q. Zhang, S. Shi, Y. Liu [et al.] // Journal of Immunology. — 2009. — Vol. 183, No 12. — P. 7787–7798.
10. Thomas A. Advanced therapy for inflammatory bowel disease: a guide for the primary care physician / A. Thomas, N. Lodhia // J. Am. Board. Fam. Med. — 2014. — Vol. 27, No 3. — P. 411–420.

УДК 611.013.395:611.018.46:616.345-002.2-08:001.891=111=161.1

УДК 611.013.395:611.018.46:616.345-002.2-08:001.891=111=161.1

RU **Стволовые мезенхимальные клетки костного мозга в лечении язвенного колита по данным морфологических и иммунологических исследований (литературный обзор)**

UA **Стволові мезенхімальні клітини кісткового мозку в лікуванні виразкового коліту за даними морфологічних і імунологічних досліджень (літературний огляд)**

В. С. Рахметова, А. Б. Оразбаева, А. Е. Амренова
Национальный научный медицинский центр, Астана, Казахстан

В. С. Рахметова, А. Б. Оразбаева, А. Е. Амренова
Національний науковий медичний центр, Астана, Казахстан

Ключевые слова: язвенный колит, мезенхимальные стволовые клетки, трансплантация, регенеративная медицина, клинические исследования

Ключові слова: виразковий коліт, мезенхімальні стволові клітини, трансплантація, регенеративна медицина, клінічні дослідження

Применение стволовых клеток в комплексной терапии воспалительных заболеваний кишечника в последнее время стало перспективной терапевтической стратегией. Для терапии воспалительных заболеваний кишечника используют мезенхимальные стволовые клетки, которые обладают иммуномодулирующими, противовоспалительными свойствами и большим регенераторным потенциалом, что и делает их привлекательными для клинического применения. По результатам проведенных исследований, мезенхимальные стволовые клетки улучшают клинические и микроскопические проявления колита, уменьшают системную и локальную продукцию провоспалительных цитокинов, подавляют воспалительный процесс, одновременно стимулируя регенерацию ткани, способствуют увеличению продолжительности ремиссии заболевания, снижают риск повторной атаки язвенного колита. Предварительные результаты проводимых в мире клинических и экспериментальных исследований обосновывают актуальность, перспективность и достаточную безопасность метода трансплантации алогенных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для лечения больных язвенным колитом.

Застосування стволових клітин в комплексній терапії запальних захворювань кишечника останнім часом стало перспективною терапевтичною стратегією. Для терапії запальних захворювань кишечника використовують мезенхімальні стовбурові клітини, які мають імуномодулюючі, протизапальні властивості та великий регенераторний потенціал, що і робить їх привабливими для клінічного застосування. За результатами проведених досліджень, мезенхімальні стовбурові клітини покращують клінічні та мікроскопічні прояви коліту, зменшують системну і локальну продукцію прозапальних цитокінів, пригнічують запальний процес, одночасно стимулюючи регенерацію тканини, сприяють збільшенню тривалості ремісії захворювання, знижують ризик повторної атаки виразкового коліту. Попередні результати клінічних та експериментальних досліджень, що проводяться в світі, обґрунтовують актуальність, перспективність і достатню безпеку методу трансплантації алогенних мезенхімальних стромальних клітин кісткового мозку для лікування хворих на виразковий коліт.

EN **Stem mesenchymal bone marrow cells in the treatment of ulcerative colitis based on morphological and immunological research (literature review)**

V. S. Rakhmetova, A. B. Orazbayeva, A. Y. Amrenova

National Scientific Medical Research Center, Astana, Kazakhstan

Key words: ulcerative colitis, mesenchymal stem cells, transplantation, regenerative medicine, clinical studies

The use of stem cells in complex therapy of inflammatory bowel diseases has become perspective therapeutic strategy. Mesenchymal stem cells, which have immuno-

modulatory, anti-inflammatory properties and high regenerative potential, are used for therapy of inflammatory bowel disease, what is making them attractive to clinical application. According to the results of the conducted studies, mesenchymal stem cells improve clinical and microscopic manifestations of colitis, reduce system and local production of pro-inflammatory cytokines, suppress inflammatory process, stimulating tissue regeneration at the same time, promote the increase in the duration of remission of a disease, reduce the risk of the relapse of ulcerative colitis. Preliminary results of clinical and experimental studies carried out in the world justify the relevance, prospects and sufficient safety of the transplantation method of allogenic mesenchymal stromal cells of bone marrow for treatment of patients with the ulcerative colitis.