

## Клеточная терапия перианальных проявлений болезни Крона

О.В. КНЯЗЕВ<sup>1</sup>, Н.А. ФАДЕЕВА<sup>1</sup>, А.В. КАГРАМАНОВА<sup>1</sup>, Н.И. БЕЛЯКОВ<sup>1</sup>, Н.В. ОРЛОВА<sup>1</sup>, А.А. ЛИШИНСКАЯ<sup>1</sup>, А.Г. КОНОПЛЯННИКОВ<sup>2</sup>, А.И. ПАРФЕНОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Россия;

<sup>2</sup>Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба Минздрава РФ, Обнинск, Россия

### Резюме

**Цель.** Сравнить влияние комбинированной (местное и системное введение) терапии мезенхимальными стромальными клетками (МСК) костного мозга, антицитокиновой (инфликсимаб – ИФЛ) терапии и терапии антибиотиками (АБ) и иммуносупрессорами (ИС) на заживление простых перианальных свищей при болезни Крона (БК).

**Материалы и методы.** Первая группа больных БК в возрасте от 19 до 58 лет (Me – 29; n=12) получала культуру МСК системно по схеме и местно. Вторая группа (n=10) от 20 до 68 лет (Me – 36) получала ИФЛ по схеме. Третья группа (n=14) от 20 до 62 лет (Me – 28) получала АБ и ИС. Эффективность оценивали по индексу активности БК, индексу перианальной активности БК и частоте рецидивов.

**Результаты.** Через 12 нед среди больных 1-й группы заживление простых свищей отмечено у 8 (66,6%) больных, во 2-й группе – у 6 (60%), в 3-й группе – у 1 (7,14%) пациента. Через 6 мес в 1-й группе больных заживление простых свищей сохранялось у 8 (66,6%), во 2-й группе – у 6 (60%), в 3-й группе – у 1 (7,14%) пациента. Через 12 мес в 1-й группе заживление простых свищей сохранялось у 7 (58,3%), во 2-й группе – у 6 (60%), в 3-й группе – у 2 (14,3%) пациентов. Через 24 мес среди больных 1-й группы закрытие свищей сохранялось у 5 (41,6%) больных, во 2-й группе – у 4 (40%), в 3-й группе – у 0 (0%).

**Заключение.** Комбинированная клеточная и антицитокиновая терапия БК с перианальными поражениями достоверно способствует более частому и длительному закрытию простых свищей по сравнению с АБ/ИС, а также уменьшению частоты рецидивов заболевания.

*Ключевые слова:* болезнь Крона, свишевая форма, инфликсимаб, мезенхимальные стромальные клетки, клеточная терапия.

## Stem Cell Therapy for Perianal Crohn's Disease

O.V. KNYAZEV<sup>1</sup>, N.A. FADEEVA<sup>1</sup>, A.V. KAGRAMANOVA<sup>1</sup>, N.I. BELYAKOV<sup>1</sup>, N.V. ORLOVA<sup>1</sup>, A.A. LISHCHINSKAYA<sup>1</sup>, A.G. KONOPLYANNIKOV<sup>2</sup>, A.I. PARFENOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Moscow Clinical Research Center, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Medical Radiological Research Center, Obninsk, Russia

### Summary

**Aim.** To compare the effectiveness of the effect of combination therapy (local and systemic administration) with bone marrow mesenchymal stromal cells (MSC), anticitokine therapy with infliximab (IFX), and antibiotic (AB)/immunosuppressive (IS) therapy on the frequency of healing of simple perianal fistulas in Crohn's disease.

**Materials and methods.** In our study, the 1-st group of patients aged 19 to 58 years (Me-29) (n = 12) received MSCs culture systemically according to the scheme and locally. The 2-nd group of patients with CD (n = 10) from 20 to 68 years old (Me-36) received anticytokine therapy with infliximab (IFX) according to the scheme. The 3-d group of patients with CD (n=14) from 20 to 62 years old (Me-28) received antibiotics (AB) and immunosuppressors (IS). Efficacy was assessed by the index of perianal activity of Crohn's disease (PCDAI) and the frequency of relapses.

**Results.** After 12 weeks among patients of the 1-st group, healing of simple fistulas was noted in 8/12 patients (66.6%), in the 2-nd group in 6/10 (60.0%) In the 3-d group, in 1/14 patients (7.14%). After 6 months in the 1-st group of patients, healing of simple fistulas was preserved in 8/12 (66.6%), in the 2-nd group - in 6/10 (60.0%). In the 3-d group - in 1/14 patients (7.14%). After 12 months in the 1-st group, healing of simple fistulas was preserved in 7/12 (58.3%), in the second group - in 6/10 (60.0%). In the 3-d group - in 2/14 patients (14.3%). After 24 months, among the patients of the 1-st group, fistula closure was maintained in 5/12 patients (41.6%), in the 2-nd group - in 4/10 (40.0%). In the 3-d group - in 0/14 patients (0.0%).

**Conclusion.** Combined cellular and anticytokine therapy of CD with perianal lesions significantly contributes to the more frequent and prolonged closure of simple fistulas, as compared to antibiotics/immunosuppressors, and to a decrease in the frequency of recurrence of the disease.

*Keywords:* Crohn's disease, infliximab, fistula form, mesenchymal stromal cells, stem cell therapy.

АБ – антибиотики

БК – болезнь Крона

в/в – внутривенное

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ГИБП – генно-инженерные биологические препараты

ДИ – доверительный интервал

ИАБК – индекс активности болезни Крона

ИАПБК – индекс активности перианальной болезни Крона

ИС – иммуносупрессоры

ИФЛ – инфликсимаб

МРТ – магнитно-резонансная томография

МСК – мезенхимальные стромальные клетки

ОР – относительный риск

ТУИС – трансанальное ультразвуковое исследование

Болезнь Крона (БК) — хроническое воспалительное прогрессирующее заболевание желудочно-кишечного тракта с преимущественным поражением терминального отдела подвздошной кишки. В зависимости от течения различают три фенотипа (формы) БК: воспалительную, стенозирующую и пенетрирующую [1]. В большинстве случаев начальный этап

БК характеризуется гранулематозным воспалением слизистой оболочки кишки, однако со временем у многих больных формируются стриктуры или свищи/фистулы как результат неконтролируемого прогрессирования воспалительного процесса. В течение 20 лет у 88% пациентов развиваются стриктуры (18%) и свищи/фистулы (70%) [2].

Клиническое течение БК и темпы ее прогрессирования значительно варьируют. У 43% больных заболевание начинается с тяжелой атаки, сменяющейся появлением относительно редких симптомов на протяжении последующих 10 лет [3]. Однако у 51% больных БК носит хроническое течение (19%) или имеет рецидивирующий характер (32%) [3, 4].

Конечной целью лечения БК является заживление пораженных сегментов кишки, увеличение продолжительности ремиссии, уменьшение частоты и тяжести осложнений и улучшение качества жизни больных [5–7]. Лечение пациентов с БК должно проводиться с учетом прогностических факторов прогрессирования заболевания. Согласно Консенсусу The European Crohn's and Colitis Organization (ЕССО), клиническое течение БК можно прогнозировать на основании клинических симптомов в момент установления диагноза, возраста пациентов, анамнеза, внекишечных проявлений, а также наличия стенозов и свищей. Периаанальные свищи – наиболее распространенные и часто встречающиеся типы свищей при БК [8]. Общая распространенность периаанальных свищей в структуре БК варьирует от 21 до 23%, при этом на первом году течения заболевания этот показатель составляет 12%, на 5-м году – 15%, на 10-м – 21%, на 20-м году – 26% [9–11]. Особенно характерны для БК свищи прямой кишки. Прямокишечные свищи не угрожают жизни, но ухудшают ее качество и с трудом поддаются лечению. Поэтому в настоящее время периаанальные поражения рассматриваются как инвалидизирующие проявления БК. Они наблюдаются у 25–80% пациентов и могут в течение нескольких лет предшествовать абдоминальным симптомам [12].

Периаанальные свищи подразделяют на формы простые и сложные. К простым периаанальным свищам относят ректовагинальные поверхностные, низкие интра- и трансфинктерные свищи, имеющие единственное наружное отверстие, без клинических признаков абсцедирования и острого воспалительного процесса при отсутствии стриктуры анального канала. К сложным свищам относят любые формы (по отношению к анальному сфинктеру) высоких свищей с множественными наружными отверстиями, с признаками абсцедирования, ректовагинальные свищи, а также свищи со стриктурой анального канала. Кроме того, если при эндоскопии верифицируется выраженный специфический проктит Крона, то данный свищ относят к категории сложного [13].

Свищевая форма БК является показанием для назначения биологической терапии генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП) в момент установления диагноза (терапия «Top-down»).

Клиническое исследование по оценке эффективности инфликсимаба (ИФЛ) для лечения пациентов со свищевой

формой БК (АССЕНТ II) подтвердило его положительное влияние. Однако сохраняется высокий риск развития рецидива БК. Поэтому остается актуальным поиск новых подходов и методов терапии этой формы БК [14].

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) обладают иммуномодулирующими свойствами, большим регенеративным потенциалом и применяются в комплексной терапии воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) с 2008 г. [15]. В настоящее время они также применяются для лечения свищевой БК и периаанальных свищей [16]. Итальянскими учеными проведено исследование по безопасности и эффективности местного введения аутологичных МСК костного мозга в терапии свищевой формы БК. На основании полученных результатов сделан вывод, что их местное введение является безопасным и эффективным методом терапии этой формы БК [17–20].

Ряд исследователей показали, что существуют различия в эффективности между системным и местным введением МСК для лечения свищевой формы БК. В экспериментальной модели колита E. Gonzalez-Rey и соавт. установили, что МСК, полученные из жировой ткани, при внутрибрюшинном введении мигрируют по принципу «хоуминга», именно в зону воспаления толстой кишки [21]. M. Duijvestein и соавт. наблюдали аналогичный эффект «хоуминга» с использованием МСК костного мозга человека при системном введении. Тем не менее, лишь небольшое количество меченых МСК обнаружено в воспаленном кишечнике при системном введении культуры клеток [22]. Считается, что внутривенное (в/в) введение МСК оказывает системный иммуномодулирующий эффект, способствующий восстановлению поврежденных тканей. При местном введении большее количество МСК достигает поврежденных тканей, чем при в/в введении, что обеспечивает более интенсивную регенерацию тканей благодаря созданию высокой концентрации растворимых ростовых факторов в зоне повреждения.

Частота серьезных нежелательных явлений, вызываемых трансплантацией МСК, не превышает 1,75%. К наиболее частым возможным нежелательным явлениям относят появление боли в месте введения, лихорадку и формирование периаанальных абсцессов [23, 24].

**Цель** нашего исследования – сравнить влияние комбинированной (местное и системное введение) терапии МСК костного мозга, антицитокиновой (ИФЛ) терапии и терапии антибиотиками (АБ)/иммуносупрессорами (ИС) на заживление простых периаанальных свищей при БК.

## Материалы и методы

В исследование включены 36 пациентов в возрасте от 18 до 70 лет со средней степенью индекса активности БК (ИАБК) и средней степенью индекса активности периаанальной формы БК (ИАПБК). Пациенты ознакомлены с целью исследования, возможными рисками и подписали форму информированного согласия на проведение данного метода лечения.

«Протокол ограниченных клинических испытаний метода системной трансплантации аллогенных МСК костного мозга человека у больных язвенным колитом и БК» утвержден Ученым Советом и согласован с локальным этическим комитетом МКНЦ им. А.С. Логинова. Данное

### Сведения об авторах:

*Князев Олег Владимирович* – д.м.н., зав. отд-нием воспалительных заболеваний кишечника

*Фадеева Нина Александровна* – к.м.н., с.н.с. отд-ния воспалительных заболеваний кишечника

*Каграманова Анна Валерьевна* – к.м.н., с.н.с. отд-ния патологии кишечника

*Беляков Никита Игоревич* – ординатор отд-ния воспалительных заболеваний кишечника

*Орлова Наталья Владимировна* – зав. отд-нием рентгенологии

*Лищинская Альбина Александровна* – к.м.н., н.с. отд-ния воспалительных заболеваний кишечника

*Коноплянников Анатолий Георгиевич* – проф., зав. отд-нием клеточной и экспериментальной лучевой терапии

### Контактная информация:

*Парфенов Асфольд Иванович* – д.м.н., проф., зав. отделом патологии кишечника, e-mail: asfold@mail.ru; тел.: (495)304-30-14

**Таблица 1. Исходные демографические и клиничко-лабораторные показатели активности БК в группах больных**

Показатель	Первая группа (n=12)	Вторая группа (n=10)	Третья группа (n=14)
Возраст, Ме, лет	29	36	28
Мужчины, n/%	5/41,6	4/40,0	8/57,1
Женщины, n/%	7/58,4	6/60,0	6/42,9
Длительность болезни (M±m), лет	7,2±0,9	6,7±0,9	6,8±0,7
Предшествующая терапия БК в течение последних 6 мес			
Антибиотики, n/%	11/91,7	7/70,0	12/85,7
Глюкокортикоиды, n/%	9/75,0	8/80,0	6/42,9
Отсутствует, n/%	1/8,3	2/20,0	2/14,3
ИАБК, баллы	328,6±12,2	326,5±13,8	323,6±8,9
ИАПБК, баллы	4,7±0,3	4,7±0,3	4,8±0,25
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	387,2±34,9	386,6±44,4	389,7±44,4
С-реактивный белок, мг/л	23,5±5,3	25,0±6,1	21,6±4,6
СОЭ, мм/ч	36,9±5,6	36,3±5,6	30,2±2,9
Гемоглобин, г/л	107,6±14,1	101,5±9,7	110,7±11,4
Формы перианальных поражений			
Язвы-трещины анального канала	2/16,6	3/30,0	1/7,2
Простые свищи прямой кишки	8/66,2	4/40,0	10/71,4
Ректовагинальный свищ	–	1/10,0	–
Сочетание двух видов перианальных свищей	2/16,6	2/20,0	3/21,4

исследование проведено до вступления в силу Федерального закона от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах».

Пациенты с БК имели следующие перианальные поражения: у 6 (16,6%) больных выявлены язвы-трещины анального канала, у 23 (63,9%) – простые свищи прямой кишки, у 7 (19,5%) – сочетание двух видов перианальных поражений.

Пациентов разделили на 3 группы в зависимости от метода терапии. Первая группа больных в возрасте от 19 до 58 лет (Ме – 29; n=12) получала культуру МСК системно (по схеме) и местно, как показано на рис. 1 (см. на цветной вклейке). Вторая группа больных БК (n=10) в возрасте от 20 до 68 лет (Ме – 36) получала антицитокиновую терапию ИФЛ по стандартной схеме в дозе 5 мг/кг массы тела. Третья группа больных БК (n=14) в возрасте от 20 до 62 лет (Ме – 28) получала АБ и ИС.

Основные исходные демографические и клиничко-лабораторные показатели активности БК представлены в табл. 1.

Ано- и ректороманоскопию проводили всем пациентам со свищами прямой кишки. Для получения более четкого представления о сложности хода, наличии карманов и гнойных затеков выполняли фистулографию с введением рентгеноконтрастного вещества непосредственно в свищевой ход с последующим выполнением рентгенографии. При необходимости больным выполняли трансанальное ультразвуковое исследование (ТУИС) или магнитно-резонансную томографию (МРТ).

Вид свища прямой кишки определяли на рентгеновских снимках по приблизительной высоте внутреннего отверстия в соответствии с рекомендациями, разработанными в ГНЦК им. А.Н. Рыжих [26].

Забор костного мозга, культивирование МСК из клеток костного мозга пациента или донора, замораживание и хранение МСК в жидком азоте выполняли в соответствии с ранее опубликованной методикой [27]. Перед введением МСК делали посев из полученных выращиванием в культу-

ре популяций клеток для контроля возможного бактериального загрязнения (его не выявлено ни в одном случае).

**Системное и местное введение аллогенных МСК костного мозга.** Системную трансплантацию МСК выполняли путем однократного в/в капельного введения в кубитальную вену под контролем АД, пульса и термометрии в течение 40–60 мин. Для осуществления системной трансплантации 150–200 млн аллогенных МСК, размноженных в культуре, клетки взвешивали в 200 мл стерильного физиологического раствора, содержащего гепарин в концентрации 50 ЕД/мл, и путем постановки капельницы вводили пациенту в течение 40–60 мин. Для профилактики посттрансплантационных осложнений перед введением МСК больному вводили 60–90 мг преднизолона в/в струйно или 2 мл супрастина. Повторное введение МСК осуществляли через 1–2 нед, затем через 3 и 12 мес после первого введения для закрепления полученного ранее эффекта.

Местное лечение осуществляли по периметру свищевого хода: вводили 40 млн МСК через 4 точки вкола по 1 мл физиологического раствора, содержащего 10 млн МСК. Затем через 4 и 8 нед повторно вводили по 40 млн МСК в область свища (рис. 2, см. на цветной вклейке).

Оценку эффективности терапии проводили на основании оценки динамики ИАБК и ИАПБК (табл. 2) и частоты рецидивов за время наблюдения.

Контрольную ано- и ректосигмоскопию, ТУИС или МРТ осуществляли через 3, 6, 12 и 24 мес от начала терапии. Оценивали динамику заживления наружного отверстия свища, количество отделяемого, боль, сексуальную активность и степень уплотнения вокруг свищевого хода.

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. При определении рисков рецидива БК по мето-

Таблица 2. Индекс активности перианальной БК (ИАПБК)

Признак	Баллы	Характеристика
Отделяемое	0	Отсутствие отделяемого
	1	Минимальное выделение слизи
	2	Умеренное слизистое или гнойное отделяемое
	3	Значительное отделяемое
	4	Макроскопически заметное присутствие кала
Боль и ограничение физической активности	0	Отсутствие или ограничение физической активности
	1	Небольшой дискомфорт, ограничение физической активности
	2	Умеренный дискомфорт, некоторое ограничение физической активности
	3	Значительный дискомфорт, значительное ограничение физической активности
	4	Сильная боль, невозможность физической активности
Ограничение сексуальной активности	0	Отсутствие ограничения сексуальной активности
	1	Незначительное ограничение сексуальной активности
	2	Умеренное ограничение сексуальной активности
	3	Значительное ограничение сексуальной активности
	4	Невозможность заниматься сексом
Тип перианальных поражений	0	Отсутствие перианальных поражений и разрастаний кожи
	1	Анальная трещина или разрыв слизистой оболочки
	2	<3 перианальных свищей
	3	>3 перианальных свищей
	4	Свищевое изъязвление анального сфинктера со значительным подрывом кожи
Степень уплотнения (индурации)	0	Отсутствие уплотнения
	1	Минимальное уплотнение
	2	Умеренное уплотнение
	3	Значительное уплотнение
	4	Явная флюктуация или абсцесс

дике «заболеваемость» учитывали новые случаи исходов (рецидивов), возникших за время наблюдения в группах больных. Проведен анализ четырехпольных таблиц с использованием непараметрических статистических критериев  $\chi^2$  с поправкой Йейтса.

## Результаты

Во всех группах больных до начала лечения отмечалось минимальное или умеренное отделение слизи из заднего прохода, дискомфорт в перианальной области, наличие 2 или 3 перианальных свищей, выявленных при проведении клинического осмотра, ТУИС или МРТ, язвы-трещины анального канала с уплотнением (или отсутствием) при пальпации окружающей ткани. Наличие свищей чаще не влияло на сексуальную активность пациентов. Таким образом, исходный ИАПБК в группах составил  $4,7 \pm 0,3$ ,  $4,7 \pm 0,3$  и  $4,8 \pm 0,25$  балла соответственно ( $p > 0,05$ ).

Через 12 нед наблюдения у 8 (66,6%) пациентов 1-й группы и у 6 (60%) пациентов 2-й группы с язвами-трещинами анального канала и свищами прямой кишки наступила эпителизация, уменьшилось количество отделяемого, исчезло ощущение дискомфорта и произошло полное закрытие свищевых ходов (рис. 3 и 4, см. на цветной вклейке). У 2 (16,7 и 20%) пациентов 1-й и 2-й группы отмечено частичное закрытие свищевых ходов, что расценено нами как ответ на проводимую клеточную или антицитокинную терапию [относительный риск (ОР) 1,11; 95% доверительный интервал (ДИ) 0,58–2,12,  $p=0,9$ ]. У пациентов 3-й группы, получавших антибактериальную и иммуносупрессивную терапию, свищи закрылись у 1 (7,14%) пациента. Частичный ответ с уменьшением серозного отделяемого, болей и т.д. отмечен у 4 (28,6%) пациентов. У 9 (64,3%) пациентов ответ на проводимую терапию отсутствовал.

На рис. 5 (см. на цветной вклейке) показаны изменения ИАПБК в процессе лечения. Во всех группах пациентов наступило достоверное снижение средних значений ИАПБК: в 1-й группе – с  $4,7 \pm 0,3$  до  $1,8 \pm 0,38$  балла ( $p < 0,05$ ), во 2-й группе – с  $4,7 \pm 0,3$  до  $1,9 \pm 0,45$  балла ( $p < 0,05$ ), в 3-й группе – с  $4,8 \pm 0,25$  до  $2,57 \pm 0,46$  балла ( $p < 0,05$ ).

Через 26 нед у 1 (10%) пациента, получавшего ИФЛ (2-я группа), и у 2 (16,7%) пациентов, получающих МСК (1-я группа), вновь появился дискомфорт в перианальной области, появилось отделяемое из свища прямой кишки и умеренная боль. Рецидив произошел у пациентов с частичным клиническим ответом на проводившуюся биологическую терапию. В целом эффективность клеточной и антицитокинной терапии у пациентов с БК за 6 мес наблюдения сопоставима (ОР 1,11; 95% ДИ 0,58–2,12,  $p=0,9$ ). У 1 (7,14%) пациента 3-й группы с частичным клиническим ответом на проводимую терапию произошел рецидив БК.

Таким образом, эффективность клеточной терапии у больных 1-й группы оказалась достоверно выше, чем у больных 3-й группы, получавших АБ и ИС терапию (ОР 0,93; 95% ДИ 1,35–64,34,  $p=0,0056$ ). Через 6 мес в 1-й группе средний ИАПБК составил  $2,1 \pm 0,46$  балла, во 2-й группе –  $2,3 \pm 0,53$  балла. В 3-й группе средний ИАПБК составил  $4,1 \pm 0,46$  балла, что достоверно выше, чем в 1-й и 2-й группах пациентов с БК ( $p < 0,05$ ).

Через 52 нед у больных 1-й группы ремиссия заболевания сохранялась у 7 (58,3%) пациентов, 2-й группы – у 6 (60%) (ОР 0,97; 95% ДИ 0,48–1,95;  $p=0,72$ ). В 3-й группе ремиссия сохранялась у 1 (7,14%) пациента из 14 (ОР 8,17; 95% ДИ 1,16–57,3;  $p=0,016$ ). Через 12 мес отмечено незначительное повышение средних значений ИАПБК у больных 1-й и 2-й группы:  $2,75 \pm 0,54$  и  $2,9 \pm 0,58$  балла соответственно ( $p > 0,05$ ). В 3-й группе ИАПБК составил

**Таблица 3. Сравнительная оценка эффективности терапии в 1-й и 2-й группах пациентов с БК**

Показатель	Первая группа (n/%)	Вторая группа (n/%)	ОР	95% ДИ	p
Клиническая ремиссия к 12-й неделе	8/66,6	6/60,0	1,11	0,58–2,12	0,9
Ответ на 12-й неделе	2/16,7	2/20,0	0,83	0,14–4,9	0,7
Отсутствие ответа на 12-й неделе	2/16,7	2/20,0	0,83	0,14–4,9	0,7
Клиническая ремиссия к 26-й неделе	8/66,6	6/60,0	1,11	0,58–2,12	0,9
Ответ на 26-й неделе	0/0,0	1/10,0	–	–	0,92
Отсутствие ответа/рецидив на 26-й неделе	4/33,4	3/30,0	1,11	0,32–3,84	0,76
Клиническая ремиссия к 52-й неделе	7/58,3	6/60,0	0,97	0,48–1,95	0,72
Ответ на 52-й неделе	0/0,0	0/0,0	–	–	–
Отсутствие ответа/рецидив на 52-й неделе	5/41,6	4/40,0	1,04	0,38–2,87	0,72
Клиническая ремиссия к 104-й неделе	5/41,6	4/40,0	1,04	0,38–2,87	0,72
Ответ на 104-й неделе	1/8,3	1/10,0	0,83	0,06–11,7	0,54
Отсутствие ответа/рецидив на 104-й неделе	6/50,0	5/50,0	1,00	0,43–2,31	0,67

**Таблица 4. Сравнительная оценка эффективности в 1-й и 3-й группах пациентов с БК**

Показатель	Первая группа (n/%)	Третья группа (n/%)	ОР	95% ДИ	p
Клиническая ремиссия к 12-й неделе	8/66,6	1/7,14	0,93	1,35–64,34	0,0056
Ответ на 12-й неделе	2/16,7	4/28,6	0,58	0,13–2,65	0,8
Отсутствие ответа на 12-й неделе	2/16,7	9/64,3	0,26	0,07–0,97	0,04
Клиническая ремиссия к 26-й неделе	8/66,6	1/7,14	0,93	1,35–64,34	0,0056
Ответ на 26-й неделе	0/0,0	3/21,4	–	–	0,27
Отсутствие ответа/рецидив на 26-й неделе	4/33,4	10/71,4	0,47	0,2–1,11	0,12
Клиническая ремиссия к 52-й неделе	7/58,3	1/7,14	8,17	1,16–57,3	0,016
Ответ на 52-й неделе	0/0,0	1/7,14	–	–	0,93
Отсутствие ответа/рецидив на 52-й неделе	5/41,6	12/85,7	0,49	0,24–0,98	0,05
Клиническая ремиссия к 104-й неделе	5/41,6	0/0,0	–	–	0,028
Ответ на 104-й неделе	1/8,3	0/0,0	–	–	0,93
Отсутствие ответа/рецидив на 104-й неделе	6/50,0	14/100,0	0,5	0,28–0,88	0,01

**Таблица 5. Частота перевода больных на альтернативные методы лечения вследствие неэффективности терапии**

Показатель	Группа больных (n/%)		
	1-я	2-я	3-я
Перевод на другой анти-ФНО- $\alpha$ препарат/введение МСК	3/25,0	0/0,0	6/42,8
Перевод на препарат с иным механизмом действия	0/0,0	1/10,0	0/0,0
Хирургическое лечение периаанальных поражений	2/16,6	2/20,0	4/28,6
Хирургическое лечение с выключением из пассажа толстой кишки и/или наложением илеостомы	0/0,0	1/20,0	2/14,3

Примечание. ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли- $\alpha$ .

5,0 $\pm$ 0,26 балла и оказался достоверно выше, чем у больных 1-й и 2-й группы ( $p < 0,05$ ). Таким образом, через 12 мес у больных, получавших МСК (1-я группа) и ГИБП (2-я группа), отмечено достоверное снижение ИАПБК по сравнению с больными, получавшими АБ и ИС (3-я группа).

Через 24 мес наблюдения у некоторой части больных вновь рецидивировали периаанальные проявления БК, что проявлялось в открытии свищевых ходов, возобновлении отделения слизи, иногда гноя из заднего прохода, наличием воспалительных изменений в толстой кишке. Среди больных 1-й группы полная ремиссия сохранялась у 5 (41,6%) больных, 2-й группы – у 4 (40%) (ОР 1,04; 95% ДИ 0,38–2,87;  $p = 0,72$ ). Рецидив произошел у 6 и 5 пациентов, т.е. у 50% (ОР 1,00; 95% ДИ 0,43–2,31;  $p = 0,67$ ). В 3-й группе рецидив периаанальных проявлений БК наступил у всех больных, проявляясь увеличением гнойного и серозного отделяемого и появлением плотной индурации в периаанальной области (ОР 0,5; 95% ДИ 0,28–0,88;  $p = 0,01$ ). Сравни-

тельная оценка эффективности терапии, которая характеризовалась клинической ремиссией, ответом на лечение больных, рецидивами заболевания, между 1-й, 2-й и 3-й группами представлена в табл. 3 и 4.

Пациентов с рецидивом заболевания переводили на альтернативные методы лечения, в том числе хирургические. У 4 из 9 пациентов 1-й и 2-й группы с рецидивом потребовалось иссечение свищей (у 3 с трансфинктерными свищами и у 1 с ректовагинальным свищом), одному из 9 больных выполнена облитерация экстрасфинктерного свища. У одной пациентки 2-й группы возник рецидив и, учитывая обострение воспалительного процесса в прямой кишке, наложена илеостома с формированием илеоилеоанастомоза и выведением одностольной сигмостомы. Четыре пациента переведены на другой вариант антицитокиновой терапии.

У одного пациента 3-й группы с сочетанием язв-трещин анального канала и свищей прямой кишки и прогрессированием воспалительного процесса через 6 мес потребовалось

выполнение колопроктэктомии. У одного пациента в те же сроки выполнена операция на промежности – бужирование стриктуры и иссечение язвы-трещины анального канала (без положительного результата) и в связи с прогрессированием воспаления в толстой кишке предложена колопроктэктомия, от которой он воздержался. У 4 из 12 пациентов 3-й группы, имеющих рецидив заболевания, потребовалось иссечение свищей и установление сетонов. Шесть пациентов 3-й группы переведены на биологическую антицитокиновую и/или клеточную терапию (табл. 5).

## Обсуждение

МСК относятся к мультипотентным, способным дифференцироваться в несколько типов клеток, они присутствуют во всех тканях организма. А.Я. Фриденштейн и его коллеги впервые описали в 1974 г. концепцию МСК, впервые выделенных ими из костного мозга [28]. Клетки также могут быть успешно получены из пуповинной крови или жировой ткани для клинического применения [29, 30]. Помимо способности к дифференциации, МСК способны подавлять иммунную реактивность слизистой оболочки и стимулировать заживление тканей, что актуально для клинической практики [31–33]. Дополнительные исследования показывают, что МСК ингибируют пролиферацию Т-клеток *in vitro* [34, 35] и путем активации запрограммированной клеточной гибели [36]. Конкретные механизмы иммуномодуляции МСК пока не ясны, но известно, что влияние на клетки-мишени происходит в непосредственной близости от клетки и зависит не только от межклеточных контактов [36, 37]. Обнадёживающие результаты демонстрируют потенциальную функциональную способность МСК влиять на иммунный ответ и ослаблять воспаление, подтверждая их клиническую значимость для терапевтической трансплантации при аутоиммунных заболеваниях.

Сегодня МСК используют для лечения рефрактерных форм БК путем системной трансплантации (в/в введение)

при активной люминальной форме заболевания [15] или путем местного введения при перианальной форме [38]. Терапия свищевой формы БК в настоящее время сместилась от исключительно хирургических методов к применению клеточной и антицитокиновой терапии. К сожалению, несмотря на все достижения, длительное закрытие свищей остается на невысоком уровне (37%) [39].

Существует комплекс различных путей и механизмов, через которые МСК воздействуют на поврежденные воспалением ткани в кишечнике. Их раскрытие позволит улучшить современные стратегии терапии БК, в том числе в достижении более глубокого уровня ремиссии. Большое значение имеет и поиск других источников стволовых клеток в доклинических исследованиях на животных. В дополнение к пониманию фундаментальных знаний должны совершенствоваться протоколы применения МСК в терапии больных рефрактерной БК и других аутоиммунных заболеваний.

## Заключение

Перианальные свищи при БК характеризуются упорным рецидивирующим течением, часто могут быть глубокими, экстрасфинктерными и сопровождаться обширным рубцеванием. Даже в эру применения анти-ФНО- $\alpha$  препаратов они могут потребовать наложения постоянной выключающей стомы или резекции прямой кишки. Результаты нашего исследования показали, что применение комбинированной клеточной и антицитокиновой терапии при БК, осложненной перианальными поражениями, достоверно способствует более быстрому закрытию простых свищей с продолжительной последующей ремиссией. В заключение подчеркнем, что лучший результат лечения достигается при совместном наблюдении пациентов гастроэнтерологом и хирургом-проктологом.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Sachar DB, Andrew HA, Farmer RG et al. Proposed classification of patient subgroups in Crohn's disease. *Gastroenterol Intern.* 1992; 5: 141-154.
- Cosnes J, Cattan S, Blain A et al. Longterm evolution of disease behavior of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2002; 8: 244-250.
- Solberg IC, Yarn MH, Hoie O et al. Clinical course in Crohn's disease: results of a Norwegian population-based ten-year follow-up study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007; 5: 1430-1438.
- Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, Binder V. Disease activity courses in a regional cohort of Crohn's. *Scand J Gastroenterol.* 1995; 30: 699-706.
- Rutgeerts P, Feagan BC, Lichtenstein GR et al. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2004; 126: 402-413.
- Schnitzler E, Fielder H, Ferrante M et al. Mucosal healing predicts long-term outcome for maintenance therapy with infliximab in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009; 15: 1295-1301.
- Solberg IC, Lygren I, Jahnsen J et al. Mucosal healing after initial treatment may be a prognostic marker for long-term outcome in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2008; 57 (Suppl. II): A-15.
- Dignass A, Van Assche G, Lindsay JO et al. The second European evidencebased consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: current management. *J Crohn's Colitis.* 2010; 4: 28-62.
- Hellers G, Bergstrand O, Ewerth S, Holmstrom B. Occurrence and outcome after primary treatment of anal fistulae in Crohn's disease. *Gut.* 1980; 21 (6): 525-7.
- Schwartz DA, Loftus EV, Jr., Tremaine WJ, Panaccione R, Harmsen WS, Zinsmeister AR et al. The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology.* 2002; 122 (4): 875-80.
- Tang LY, Rawsthorne P, Bernstein CN. Are perineal and luminal fistulas associated in Crohn's disease? A population-based study. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association.* 2006; 4 (9): 1130-4.
- Lichtenstein GR, Van S, Bala M et al. Infliximab maintenance treatment reduces hospitalizations, surgeries, and procedures in fistulizing Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2005; 128: 862-86.
- Sandborn WJ, Fazio VW, Feagan BC et al. American Gastroenterological Association Clinical Practice Committee. AGA technical review on perianal Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2003; 125: 1508-1530.
- Williamson PR, Hollinger MD, Larch SW et al. Twenty year review of the surgical management of perianal Crohn's disease. *Dis Colon Rectum.* 1995; 38: 389-92.
- Князев О.В. Клеточная терапия рефрактерных форм болезни Крона / О. В. Князев, А.И. Парфенов, П.Л. Щербаков, И.Н. Ручкина, А.Г. Конопляников. *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2013; 3: 145-152. [Knyazev OV, Parfenov AI, Shcherbakov PL., Ruchkina IN, Konoplyannikov AG. Cell therapy for refractory Crohn's disease. *Cell technologies in biology and medicine.* 2013; 3: 145-152. (In Russ.)]
- Aguilera-Castro L, Ferre-Aracil C, Garcia-Garcia-de-Paredes A, Rodriguez-de-Santiago E, Lopez-Sanroman A. Management of complex perianal Crohn's disease. *Ann Gastroenterol.* 2017; 30 (1): 33-44. doi: 10.20524/aog.2016.0099

17. Ciccocioppo R, Bernardo ME, Sgarella A et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of fistulising Crohn's disease. *Gut*. 2011 Jan 21. Epub ahead of print.
18. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Diseases of the Colon and Rectum*. 2005; 48 (7): 1416-1423.
19. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase ii clinical trial. *Diseases of the Colon and Rectum*. 2009; 52(1): 79-86.
20. Ciccocioppo R, Bernardo ME, Sgarella A et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of fistulising Crohn's disease. *Gut*. 2011; 60 (6): 788-798.
21. Gonzalez-Rey E, Anderson P, González MA, Rico L, Büscher D, Delgado M. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut*. 2009; 58 (7): 929-939.
22. Duijvestein M, Wildenberg ME, Welling MM et al. Pretreatment with interferon- $\gamma$  enhances the therapeutic activity of mesenchymal stromal cells in animal models of colitis. *Stem Cells*. 2011; 29: 1549-1558.
23. Lei Yea, Xiaowei Wua, Na Yua, Jingxin Panb, Lianming Liaoc, Fangyu. Clinical efficacy and safety of stem cells in refractory Crohn's disease: A systematic review. *Wang Journal of Cellular Immunotherapy*. March 2016; 2 (1): 21-2.
24. Panes J. Stem Cell Therapy for Perianal Fistulas in Crohn's Disease. *Gastroenterol Hepatol (NY)*. 2016 Oct; 12 (10): 637-640.
25. Fernando de la Portilla, Ana M. García Cabrera, Rosa M. Rodríguez Jiménez, María L. Reyes and Damian García Olmo. Autologous and Allogeneic Stem Cell Transplantation for Treatment of Crohn's Fistulae/New Insights into Inflammatory Bowel Disease. Edited by Samuel Huber, ISBN 978-953-51-2755-0, Print ISBN 978-953-51-2754-3, 262 pages, Publisher: InTech, Chapters published October 26. doi: 10.5772/61540
26. Клинические рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных хроническим парапроктитом (свищ заднего прохода, свищ прямой кишки). Общероссийская общественная организация «Ассоциация колопроктологов России», Москва, 2013: 20. [Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of adult patients with chronic paraproctitis (fistulas of the anus, fistula of the rectum). Russian public organization «Association of Coloproctology Russia», Moscow, 2013: 20. (In Russ.)]
27. Цыб А.Ф., Коноплянников А.Г., Колесникова А.И., Павлов В.В. Получение и использование в медицине клеточных культур из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека. *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 2004; 59 (9): 71-76. [Tsyb AF, Konoplyannikov AG, Kolesnikov AI, Pavlov VV. The preparation and use in medicine, cell cultures of mesenchymal stem cells of bone marrow. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2004; 59 (9): 71-76. (In Russ.)]
28. Friedenstein A, Chailakhyan R, Latsinik N, Panasyuk A, Keiliss-Borok I. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. *Cloning in vitro and retransplantation in vivo. Transplantation*. 1974; 17: 331-340.
29. Zuk P, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte D, Huang J, Mizuno H et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002; 13: 4279-4295.
30. Sensebe L, Krampera M, Schrezenmeier H, Bourin P, Giordano R. Mesenchymal stem cells for clinical application. *Vox Sang*. 2010; 98: 93-107.
31. Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, Ferrer K, McIntosh K, Patil S et al. (2002) Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol*. 30: 42-48.
32. Krampera M, Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naïve and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood*. 2003; 101: 3722-3729.
33. Stappenbeck T, Miyoshi H. The role of stromal stem cells in tissue regeneration and wound repair. *Science*. 2009; 324: 1666-1666.
34. Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol*. 2003; 31: 890-896.
35. Augello A, Tasso R, Negrini S, Amateis A, Indiveri F, Cancedda R et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway. *Eur J Immunol*. 2005; 35: 1482-1490.
36. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanese M, Longoni P, Matteucci P et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood*. 2002; 99: 3838-3843.
37. Ankrum J, Ong J, Karp J. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. *Nat Biotech*. 2014; 32: 252-260.
38. Князев О.В., Парфенов А.И., Щербakov П.Л., Коноплянников А.Г., Ручкина И.Н., Лищинская А.А. Комбинированная биологическая терапия свищевой формы болезни Крона. Клиническая демонстрация. *Терапевтический архив*. 2014; 86 (2):102-105. [Knyazev OV, Parfenov AI, Shcherbakov PL, Konoplyannikov AG, Ruchkina IN, Lishchinskaya AA. Combined biological therapy of the fistula form of Crohn's disease. Clinical demonstration. *Therapeutic archive*. 2014; 86 (2): 102-105. (In Russ.)]
39. Schwartz D, Loftus E, Tremaine W, Panaccione R, Harmsen W, Zinsmeister A et al. The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology*. 2002; 122: 875-880.

Поступила 29.01.2018