



(51) МПК
A61H 23/02 (2006.01)
C12N 5/0789 (2010.01)
G01N 33/52 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61H 23/02 (2018.08); C12N 5/0662 (2018.08); G01N 33/52 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2018109468, 16.03.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 16.03.2018

Дата регистрации:
 21.03.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 16.03.2018

(45) Опубликовано: 21.03.2019 Бюл. № 9

Адрес для переписки:

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул.
 Ленинградская, 70, РНЦРХТ, Шутко А.Н.

(72) Автор(ы):

Шутко Алексей Николаевич (RU),
 Герасимова Ольга Анатольевна (RU),
 Фёдоров Вячеслав Алексеевич (RU),
 Жеребцов Фёдор Константинович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
 БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
 "РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
 РАДИОЛОГИИ И ХИРУРГИЧЕСКИХ
 ТЕХНОЛОГИЙ ИМЕНИ АКАДЕМИКА
 А.М. ГРАНОВА" МИНИСТЕРСТВА
 ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
 ФЕДЕРАЦИИ / ФГБУ "РНЦРХТ им. ак.
 А.М. Гранова" Минздрава России (RU),
 ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
 ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ВИТАФОН" -
 ООО "ВИТАФОН" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: **МОНАМАДНЕЖАД М. et al.**
Intraportal infusion of bone marrow
mononuclear or CD133+ cells in patients with
decompensated cirrhosis: a double-blind
randomized controlled trial. Stem Cells Transl
Med. 2016, 5(1), p. 87-94. RU 2494404 C1,
27.09.2013. RU 2413493 C1, 10.03.2011. RU
2166924 C1, 20.05.2001. RU 2268031 C1,
20.01.2006. CN 103830844 A, (см. прод.)

(54) СПОСОБ ПОДДЕРЖАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЦИРРОТИЧЕСКИ
 ИЗМЕНЕННОЙ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ В ЛИСТЕ ОЖИДАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНА

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к гепатологии, и может быть использовано для поддержания функционального состояния цирротически измененной печени у пациентов в листе ожидания трансплантации органа. Производят доставку в печень аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (CD133+ ГСК), которую осуществляют путем чрескожной

неинвазивной механической вибрации на область печени в диапазоне 0.02-10 кГц, индуцирующей опосредованное высвобождение в кровь альфа-фетопротейна (афп+CD133+ГСК) гемопоэтических стволовых клеток. Мониторят их содержание в лимфоцитах крови не реже одного раза в неделю методом проточной цитометрии до и во время курса вибрации по показателям абсолютного

содержания афп+ CD133+ ГСК и относительного их содержания в общей фракции CD133+ГСК. При этом вибрацию осуществляют ежедневно один раз в день в течение 15 минут при амплитуде вибраций 10 ± 2 мкм и длительности каждого цикла 60 ± 10 сек. По достижению максимального увеличения хотя бы одного из этих показателей во время курса вибрации по сравнению с их значениями до него вибрационное воздействие заканчивают, продолжая мониторинг. В

случае снижения достигнутых показателей вибрационное воздействие повторяют в тех же режимах. Способ обеспечивает специфичность по отношению к печени, неинвазивность - исключение хирургической травмы, а также возможность неоднократных повторений без причинения ущерба здоровью больного, находящегося в листе ожидания трансплантации печени. 2 табл., 2 пр.

(56) (продолжение):

04.06.2014. US 7909785 B2, 22.03.2011. WO 2010003223 A1, 14.01.2010. ШУТКО А.Н. и др. Фракции гематопозитических стволовых клеток крови реципиентов до и после трансплантации печени. Медицинский Академический Журнал, 2013, том 13, N4, стр. 66-70.

RU 2682874 C1

RU 2682874 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61H 23/02 (2006.01)
C12N 5/0789 (2010.01)
G01N 33/52 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61H 23/02 (2018.08); C12N 5/0662 (2018.08); G01N 33/52 (2018.08)(21)(22) Application: **2018109468, 16.03.2018**(24) Effective date for property rights:
16.03.2018Registration date:
21.03.2019

Priority:

(22) Date of filing: **16.03.2018**(45) Date of publication: **21.03.2019** Bull. № 9

Mail address:

**197758, Sankt-Peterburg, pos. Pesochnyj, ul.
Leningradskaya, 70, RNTSRKHT, Shutko A.N.**

(72) Inventor(s):

**Shutko Aleksej Nikolaevich (RU),
Gerasimova Olga Anatolevna (RU),
Fedorov Vyacheslav Alekseevich (RU),
Zhrebtsov Fedor Konstantinovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**FEDERALNOE GOSUDARSTVENNOE
BYUDZHETNOE UCHREZHDENIE
"ROSSIJSKIJ NAUCHNYJ TSENTR
RADIOLOGII I KHIRURGICHESKIKH
TEKHOLOGIJ IMENI AKADEMIKA A.M.
GRANOVA" MINISTERSTVA
ZDRAVOOKHRANENIYA ROSSIJSKOJ
FEDERATSII / FGBU "RNTSRKHT im. ak.
A.M. Granova" Minzdrava Rossii (RU),
OBSHCHESTVO S OGRANICHENNOJ
OTVETSTVENNOSTYU "VITAFON" - OOO
"VITAFON" (RU)**(54) **METHOD FOR MAINTENANCE OF FUNCTIONAL STATE OF CIRRHOTICALLY CHANGED LIVER IN PATIENTS IN WAITING LIST OF ORGAN TRANSPLANTATION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely to hepatology, and can be used for maintenance of functional state of cirrhotically changed liver in patients in waiting list of organ transplantation. Autologous haemopoetic stem cells (CD133+HSC) are delivered into the liver, which is performed by percutaneous non-invasive mechanical vibration on the hepatic region in range of 0.02–10 kHz inducing mediated release of hemopoietic stem cells into the blood of alpha-fetoprotein (afp+CD133+HSC). Their content in blood lymphocytes is monitored not less than once a week by flow cytometry before and during a course of vibration on indices of absolute content afp+CD133+HSC and their relative content in total fraction CD133+HSC.

Vibration is performed daily once per day for 15 minutes at vibration amplitude 10 ± 2 mcm and duration of each cycle 60 ± 10 seconds. Upon achieving maximum increase of at least one of these values during the vibration course as compared to their values before it, vibration exposure is completed while continuing monitoring. In case of reduction of achieved values, vibration exposure is repeated in the same modes.

EFFECT: method provides liver specificity, non-invasiveness – avoiding a surgical injury, as well as the possibility of repeated repetitions without causing damage to the health of the patient on the waiting list of liver transplantation.

1 cl, 2 tbl, 2 ex

Изобретение относится к медицине и биологии и может найти применение в трансплантологии для немедикаментозной поддержки больных с терминальными стадиями болезней печени.

Поскольку основной проблемой в трансплантологии является сохраняющийся дефицит донорских органов, срок ожидания трансплантации увеличивается при возрастании числа нуждающихся, при этом в период ожидания функция печени неизбежно ухудшается, риск летального исхода возрастает с течением времени. Для пациентов в листе ожидания поддерживающая терапия постепенно становится мало эффективной, задача сохранения функционального состояния печени до операции является чрезвычайно актуальной. На практике подбор трансплантата занимает неопределенное время, как правило, длительное, в течение которого функция печени больного продолжает неизбежно снижаться, увеличивая риск летального исхода. Большое количество таких больных, явный недостаток донорских органов и отсутствие специализированных методов эффективной медикаментозной поддержки функции печени у пациентов в листе ожидания выдвигают задачу активного медицинского поддержания остаточной функции цирротически измененной печени в течение всего периода ожидания трансплантации.

Исследования последних лет определили современную стратегию поиска решения проблемы в сфере регенеративной клеточной терапии, основанной на недавно обнаруженном свойстве стволовых гемопоэтических клеток (ГСК) способствовать регенерации тканей другого гистотипа.

С 2005 года и по настоящее время предпринимаются попытки мобилизации выхода аутологичных ГСК из костного мозга (КМ) в кровь пациента путем стимуляции кроветворения инъекциями ростовых факторов [ClinProc. 2014 Mar; 89 (3): 414-424. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.10.023; CellTransplant. 2010; 19 (11): 1475-86; BMJOpen. 2015 Mar 20; 5 (3): e007700], либо путем предварительного изъятия части костного мозга и последующей реинфузии его в кровь в виде очищенной фракции ГСК с фенотипами CD133+ [STEMCELLS Volume 23, Issue 4 April 2005 Pages 463-470], либо CD34+ ГСК [StemCells. 2006 Jul; 24 (7): 1822-1830; J.Gastroenterol 2007 Jun 28; 13 (24): 3359-3363; Am J Gastroenterol. 2008 Aug; 103 (8): 1952-1958; Cell Prolif. 2008 Feb; 41 Suppl 1 (): 115-25], либо в виде общей лимфоцитарно-моноцитарной взвеси клеток КМ, называемой мононуклеарной фракцией (МНФ) [EuropeanJournalof Gastroenterology & Hepatology 2010, 22: 33-42]. Длительный период этих попыток до сих пор не привел к окончательному заключению о преимуществе какого-либо из перечисленных подходов, выявил небезопасность внутрисосудистых инфузий клеточного материала при декомпенсированном циррозе в виде таких осложнений как нефропатия и гепаторенальный синдром [J. Gastroenterol. 2007 Jun 28; 13 (24): 3359-3363], но большинство авторов подтверждают необходимость дальнейших поисков использования терапевтических возможностей ГСК при циррозе печени.

Наиболее близким к предлагаемому является способ активного поддержания функции цирротической печени, описанный в работе [StemCellsTranslMed. 2016 Jan; 5 (1): 87-94. doi: 10.5966/sctm.2015-0004 PMID: PMC4704869.].

Этот способ основан на предположении о том, что CD133+ ГСК костного мозга оказывают стимулирующее регенерацию печеночных клеток действие подобно аналогичным феноменам, регистрируемым с ГСК в других тканях и органах.

Способ осуществляется путем предварительной трепанобиопсии из крыла собственной подвздошной кости пациента и аспирации 150 мл КМ, последующей изоляции из него в условиях лаборатории фракции мононуклеарных клеток (МНК) и/

или фракции CD133+ГСК, и реинфузии полученных МНК или CD133+ГСК в 20 мл изотонического раствора в портальную вену пациентов под местной анестезией через катетер в течение 5-10 минут на заключительной фазе процедуры. Как отмечено авторами, анализ введения МНК восьми пациентам и трем - CD133+ГСК, не выявил отличий в основном интегральном показателе неотложности выполнения трансплантации печени (MELD) в сравнении с плацебо. Вместе с тем было отмечено временное преимущество CD133+ГСК по сравнению с МНК и плацебо, хотя и статистически недостоверное ($p=0.08$). Тем не менее авторы пришли к заключению о перспективности дальнейшего изучения именно CD133+ГСК.

Достоинством способа-прототипа является использование CD133+ГСК, менее изученных, но более перспективных по сравнению с МНК.

Однако способу присущ целый ряд недостатков:

- с учетом критического состояния здоровья реципиентов, ожидающих трансплантацию, выполнение инвазивной процедуры оперативного изъятия части костного мозга нежелательно ввиду травматичности и связанных с этим рисков кровотечения и инфекции;

- длительное пребывание больного в режиме ожидания может потребовать повторных инвазивных пункций КМ и его реинфузии, что еще более усугубляет отмеченные недостатки и негативно влияет на кроветворную функцию КМ;

Кроме того, способ неспецифичен, т.к. среди клеток CD 133+ГСК далеко не все специфичны к печени. У здоровых людей концентрация специфичных (коммитированных) клеток с маркерным белком печени альфа-фетопротеин (афп+CD133+ГСК) исчисляется сотыми долями процента в лимфоцитах крови, а при циррозе печени их еще меньше [Russian journal of transplantology and artificialorgans). 2015, 17 (1): 68-73; Jacobs Journal of Regenerative Medicine, 2016, 1 (3): pp. 1-9].

Технический результат настоящего изобретения состоит в повышении специфичности поддержания функционального состояния цирротически измененной печени у пациентов в листе ожидания трансплантации органа за счет неинвазивной механической вибрации, индуцирующей опосредованное высвобождение в кровь афп+CD133+ГСК, коммитированных к печени, и снижающей травматичность способа.

Этот результат достигается тем, что в известном способе, включающем доставку в печень аутологичных CD133+ ГСК, согласно изобретению, доставку CD133+ГСК осуществляют путем чрескожной неинвазивной механической вибрации на область печени в диапазоне 0.02-10 кГц, индуцирующей опосредованное высвобождение в кровь афп+CD133+ГСК, мониторируют их содержание в лимфоцитах крови не реже одного раза в неделю методом проточной цитометрии до и во время курса вибрации по показателям абсолютного содержания афп+ CD133+ ГСК и относительного их содержания в общей фракции CD133+ГСК, при этом вибрацию осуществляют ежедневно один раз в день в течение 15 минут при амплитуде вибраций 10 ± 2 мкм и длительности каждого цикла 60 ± 10 сек., по достижению максимального увеличения хотя бы одного из этих показателей во время курса вибрации по сравнению с их значениями до него вибрационное воздействие заканчивают, продолжая мониторинг, и в случае снижения достигнутых показателей вибрационное воздействие повторяют в тех же режимах.

К созданию предлагаемого способа нас побудило то, что для поддержания функционального состояния цирротически измененной печени прототип и другие известные способы, как выше сказано, оказываются не только травматичными для пациентов, но и неспецифичными.

Наряду с известными многочисленными доказательствами положительного влияния циркулирующих в крови субпопуляций ГСК на регенерацию и функцию различных органов в последние годы доказано существование в общих фракциях ГСК специальных субфракций, несущих специфический для целевого органа белок, который указывает на коммитированность (специфичность) данной субфракции к этому органу - в предлагаемом способе это печень [Biol Cell. 2005, 97 (2): 133-146; USA SuttonHartPress; 2010; Shoutko AN et al, Jacobs Journal of Regenerative Medicine, 2016, 1 (3): pp. 1-9]. Мишенями циркулирующих коммитированных афп+CD133+ГСК являются гепатобласты (гепатоциты в фазе S клеточного цикла) печени, обеспечивающие регенерацию органа и имеющие идентичные маркеры афп и CD133. Как нами показано ранее, пересадка новой печени индуцирует увеличение афп+CD133+ГСК в крови реципиента [Shoutko, A.N. et al., Gene and Cell Therapy, 2, 7-15]. Таким образом мы пришли к заключению, что все известные подходы, включая прототип, не учитывали важной роли афп+CD133+ГСК субфракции. Поскольку основная масса CD133+ГСК из пунктата КМ может быть нейтральной или коммитированной к другим различным тканям организма, а не только к печени, расчет на ее высокую эффективность в поддержании функционального состояния цирротически измененной печени, не оправдан.

Других работ по этому вопросу нам не встречалось. В то же время именно доказанный нами факт наличия ГСК, специфичных к целевым тканям, стал основой для попытки использовать именно коммитированные клетки с целью создания нового неинвазивного подхода к поддержанию функционального состояния печени у пациентов в листе ожидания трансплантации органа.

Поскольку все описанные нами известные способы внутрисосудистого введения аутологичных ГСК, извлекаемых предварительно непосредственно из КМ пациента (прототип), оказались неспецифичными и потенциально опасными, мы попытались разработать более специфичный и неинвазивный способ решения данной проблемы путем дистанционной активации вывода из КМ в кровь пациента коммитированных к печени ГСК.

Занимаясь профессионально в течение многих лет вибрационными воздействиями с целью активации вывода ГСК из КМ [Патенты №2268031, №2166924], мы решили попробовать использовать эту идею для поддержания функционального состояния цирротически измененной печени.

Осуществление доставки ГСК путем неинвазивной механической вибрации печени в диапазоне 0.02-10 кГц индуцирует, что нами доказано, создание в КМ и выведение в кровь ГСК, коммитированных непосредственно к клеткам паренхимы печени. Использование неинвазивной механической вибрации печени исключает необходимость инвазивного извлечения КМ из плоских костей пациента, выделения общей фракции ГСК и последующей внутрисосудистой реинфузии этой фракции ГСК, неспецифичной для печени.

Режимы вибрационного воздействия на область печени и расположение источников вибрации - виброфонов - в специальном поясе для пациентов, удобном для закрепления его на теле в области печени, найдены нами опытным путем.

Использование цитометрического метода обеспечивает быстрое и точное определение в лимфоцитах крови абсолютного содержания коммитированных афп⁺CD133⁺ ГСК и относительного содержания их в общей фракции CD133+ГСК. Эти показатели характеризуют степень обогащения крови специфическими для печени клетками, позволяя в любой момент оценивать физиологическую связь органа с системой кроветворения. Осуществление такого опосредованного способа выведения в кровь

коммитированных к клеткам паренхимы печени ГСК, как нами показано при использовании его у пациентов, находящихся в листе ожидания трансплантации органа, является, на наш взгляд, перспективным для решения поставленной нами задачи и составило предмет настоящего изобретения.

5 Сущность способа поясняется примерами.

Пример 1. Пациентка Б., 55 лет (1962 г.р.), обратилась 17.11.2016 г. в РНЦРХТ с диагнозом: Неверифицированный цирроз печени (МКБ-К74.6) для обследования и определения показаний к трансплантации печени.

10 Из анамнеза заболевания: Считает себя больной с мая 2015 г., когда впервые начала отмечать желтушность склер и кожных покровов. Обследовалась по месту жительства, на основании данных клинического и инструментального обследования установлен цирроз печени, осложненный портальной гипертензией (асцит, варикозно-расширенные вены пищевода 2 ст). В мае 2016 г. была направлена на консультацию в РНЦРХТ с целью определения показаний к трансплантации печени.

15 При поступлении в Центр 17.11.2016 г. противопоказаний к трансплантации печени не выявлено. Пациентка согласилась на оперативное лечение и была включена в лист ожидания. Поскольку в листе ожидания Центра находилось в это время около 140 человек, а период ожидания в среднем составлял более 8 месяцев, больной в ходе планового визита было предложено для использования в амбулаторном режиме
20 вибрационное воздействие на область печени. После получения информированного согласия больная прошла лабораторное исследование крови: клинический, биохимический анализ крови, коагулограмма, онкомаркеры. Выполнена спиральная компьютерная томография (СКТ) грудной клетки, живота, таза с контрастным усилением, исключена онкопатология. Произведена ультразвуковая эластометрия
25 печени, при оценке плотности в 3 сегментах печени: SIII, SV, SVI получены значения 28 кПа, 23 кПа, 21 кПа соответственно, что соответствует степени фиброз 4 (F4). Оценка по шкалам Child-Pugh 9 баллов, что соответствует классу цирроза печени B, MELD-Na 15 баллов.

30 Перед вибрационным воздействием у больной в лимфоцитах крови цитометрически определили содержание афп+CD133+ГСК и CD133+ГСК (Табл. 1).

12.12.2016 г. начали вибрационное воздействие один раз в день в течение 15 минут при амплитуде вибраций 10 ± 2 мкм и длительности каждого цикла 60 ± 10 сек. Такое воздействие на область печени проводили с помощью терапевтического блока (ТБ), подключенного к серийному сертифицированному источнику электромеханических
35 колебаний - аппарату виброакустического воздействия «ВИТАФОН-5», Гост 50444-92 и ТУ 9444-009-23138557-2009. ТБ для контактной чрескожной передачи механических микровибраций к тканям печени изготовлен в ООО «ВИТАФОН» и состоит из 8-ми виброфонов диаметром 45 мм стандартного комплекта аппарата «ВИТАФОН-5», которые расположены в ТБ в два ряда (по четыре в каждом). Расстояния между центрами
40 рядов 75 мм и центрами виброфонов внутри каждого ряда 55 мм. Таким образом образуется активное прямоугольное поле размером 12×22 см, объединенное плоским матерчатым каркасом с 8 фиксирующими гнездами и регулируемые мягкими креплениями для фиксации на теле человека. Такой ТБ размещается на правом боку пациента таким образом, чтобы блок виброфонов плотно покрывал проекцию области
45 печени, а нижний край его совпадал с нижней границей ребер.

Процедуру больная перенесла удовлетворительно, осложнений не наблюдалось. Вибрационные воздействия продолжали ежедневно по 1 разу в день в тех же режимах с одновременным мониторингом ГСК не реже одного раза в неделю вплоть до

19.12.2016 г., когда показатели ГСК достигли максимума. Эти данные приведены в Таблице 1 в виде процентного содержания коммитированных афп+CD133+ГСК в лимфоцитах (строка 1) и общих CD133+ГСК (строка 2), а также процентного содержания коммитированных афп+CD133+ ГСК в общих CD133+ ГСК (строка 3).

5 Как видно из таблицы, положительный ответ получили 19.12.2016 г. (через неделю) в виде увеличения абсолютного содержания афп+CD133+коммитированных ГСК в 1,7 раза и относительного их содержания во фракции CD133+ГСК - в 1,9 раза.

10 Вибрационное воздействие было прекращено, а мониторинг продолжен. К 02.02.2016 г. показатели существенно снизились (см. Табл. 1), поэтому вибрационное воздействие возобновили в тех же режимах. К 20.02.2017 г. (через 3 недели) было получено существенное - 5-кратное увеличение афп+CD133+коммитированных ГСК и 2-кратное увеличение их в общей фракции CD133+ГСК, после чего воздействие вновь прервали.

15 26.04.2017 г. после очередного снижения показателей вибрационное воздействие было начато снова. Через 5 недель воздействия (вплоть до 29.05.2017 г.) было достигнуто почти 3-х кратное увеличение коммитированных афп+ГСК и 2-х кратное увеличение их в общей фракции CD133+ГСК.

20 В связи с отсутствием больной (с 29.05.2017 г. по 17.01.2018 г.) наблюдение за нею было прервано.

18.01.2018 г. было обнаружено существенное снижение показателей - до 0,0009 и 3,4 соответственно. Вибрационное воздействие возобновили и в течение 2-х недель показатели были увеличены в 2,8 раза для афп+CD133+коммитированных ГСК и в 2,1 раза для их содержания в общей фракции CD133+ГСК.

25 За время наблюдения за больной состояние оставалось удовлетворительным, ухудшения функции печени не было получено, по окончании воздействия в мае 2017 г. (29.05.17) показатель Child-Pugh 6 баллов, что соответствует классу тяжести цирроза А, а MELD - 12 баллов. Таким образом, прогностические показатели существенно улучшились. В период отсутствия вибрационного воздействия при продолжении
30 амбулаторного лечения по месту жительства субъективного ухудшения самочувствия больная не отметила, однако, выявлены изменения в виде увеличения концентрации билирубина в крови, MELD 15 баллов, по шкале Child-Pugh 7 баллов, что соответствует тяжести цирроза класс В, то есть вновь фиксировалось состояние, как при обращении, но после каждого выполнения ей вибрационного воздействия, прогностические
35 показатели существенно улучшались.

40

45

Таблица 1.

	Клетки/дата	12.12. 2016	19.12. 2016	03.02. 2017	20.02. 2017	26.04. 2017	17.05. 2017	29.05. 2018	18.01. 2018	01.02. 2018
5	1. АФП+CD133+	<u>0,00845</u>	0,0142	<u>0,0028</u>	0,014	<u>0,0021</u>	0,0023	0,006	<u>0,0009</u>	0,0025
	2. CD133+	0,0365	0,0327	0,0318	0,076	0,062	0,0816	0,087	0,0256	0,0314
10	3. ½	23,18	43,42	8,8	18,42	3,39	2,81	6,89	3,4	7,0 6
	Дни	1	7	43	61	127	147	160	389	402
	Недели	0	1	6	9	18	21	23	55	57

15 Исходные значения показателей подчеркнуты.

ВЫВОД: Благодаря вибрационным воздействиям у больной более года удавалось поддерживать функциональное состояние печени без прогрессирования цирроза.

Пример 2.

Больной Я., 54 года (1963 г.р.), обратился в РНЦРХТ 14.09.2016 г.

20 по рекомендации врача-гастроэнтеролога, с диагнозом: Первичный билиарный цирроз (ПБЦ) печени (МКБ-К74.3) для обследования и определения показаний к трансплантации печени.

Из анамнеза заболевания: Считает себя больным с 2014 г., когда впервые начал отмечать желтушность склер и кожных покровов. Обследован в клинике СЗГМУ им. Мечникова, установлен диагноз ПБЦ на основании лабораторных исследований (высокие билирубин, АЛТ, АСТ, щелочная фосфатаза) и иммунологических тестов (антимитохондриальные антитела). Назначены препараты урсодезоксихолевой кислоты (УДХК). В динамике на фоне лечения УДХК без улучшения, после чего назначен преднизолон в суточной дозе 60 мг, что позволило достичь биохимической ремиссии, но сохранялись гепатоспленомегалия, расширение внутрипеченочных желчных протоков. В сентябре 2017 г. был направлен на консультацию в РНЦРХТ с целью определения показаний к трансплантации печени.

35 В результате обследования в клинике по протоколу отбора на трансплантацию противопоказаний не выявлено. Пациент согласился на оперативное лечение и был включен в лист ожидания. Учитывая длительные сроки ожидания, больному в ходе планового визита предложено для использования в амбулаторном режиме вибрационное воздействие на область печени с целью стимуляции выделения в кровь из КМ коммитированных к ткани печени стволовых гемопоэтических клеток.

40 При обследовании перед началом вибрационного воздействия установлены значения основных прогностических показателей: MELD 18 баллов, Child-Pugh 8 баллов, что определяло класс тяжести цирроза печени как В. Далее процедуры подготовки больного и вибрационного воздействия выполнялись аналогично Примеру 1. Осложнений при проведении процедур не было. Результаты цитометрического мониторинга представлены в Таблице 2.

Таблица 2.

	Клетки/дата	26.12. 2017	11.01. 2018	24.01 2018
5	1. АФП+CD133+	<u>0,0011</u>	0,0023	0,032
	2. CD133+	<u>0,0561</u>	0,051	0,1324
10	3. ½	1,96	4,51	25,07
	Дни	1	16	29
	Недели	0	2	4

15 Исходные значения показателей подчеркнуты.

За относительно небольшое время наблюдения показатели функции печени не изменились, а уровень билирубина снизился с 80 до 62 мкмоль/л. MELD снизился с 18 до 16 баллов. Таким образом, ухудшения состояния больного нет, вибрационное воздействие может быть продолжено.

20 Еженедельное мониторирование показателей функции печени показали, что максимальное увеличение абсолютного содержания афп+CD133+коммитированных клеток в лимфоцитах (с 0,0011 до 0,032) и их относительного содержания во фракции CD133+ ГСК (с 1,96 до 25,1) произошло через 4 недели.

25 Выводы: Благодаря вибрационным воздействиям у больного получено 3-кратное увеличение коммитированных к печени клеток в лимфоцитах и более чем 12-кратное увеличение их содержание в общей фракции ГСК. Пациент продолжает наблюдаться.

К настоящему времени предлагаемый способ использован у 7 пациентов, у всех из них удается поддерживать функциональное состояние печени без прогрессирования цирроза.

30 Предлагаемый способ по сравнению с известными имеет ряд существенных преимуществ, основными из которых являются специфичность по отношению к целевому органу, неинвазивность - исключение хирургической травмы -, а также возможность неоднократных повторений без причинения ущерба здоровью больного с терминальной стадией болезни печени.

35 Способ разработан в группе трансплантологии совместно с лабораторией методов повышения эффективности терапии РНЦРХТ и ООО «ВИТАФОН» и прошел клиническую апробацию у 7 потенциальных реципиентов с положительным результатом.

(57) Формула изобретения

40 Способ поддержания функционального состояния цирротически измененной печени у пациентов в листе ожидания трансплантации органа, включающий доставку в печень аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (CD133+ ГСК), отличающийся тем, что доставку CD133+ГСК осуществляют путем чрескожной неинвазивной механической вибрации на область печени в диапазоне 0.02-10 кГц, индуцирующей опосредованное
45 высвобождение в кровь альфа-фетопротейн (афп+CD133+ГСК) гемопоэтических стволовых клеток, мониторируют их содержание в лимфоцитах крови не реже одного раза в неделю методом проточной цитометрии до и во время курса вибрации по показателям абсолютного содержания афп+ CD133+ ГСК и относительного их

содержания в общей фракции CD133+ГСК, при этом вибрацию осуществляют ежедневно один раз в день в течение 15 минут при амплитуде вибраций 10 ± 2 мкм и длительности каждого цикла 60 ± 10 сек, по достижению максимального увеличения хотя бы одного из этих показателей во время курса вибрации по сравнению с их значениями до него
5 вибрационное воздействие заканчивают, продолжая мониторинг, и в случае снижения достигнутых показателей вибрационное воздействие повторяют в тех же режимах.

10

15

20

25

30

35

40

45