



¹Л. В. ШАЛЬКЕВИЧ, ²Д. В. ОСТРОУШКО, ³О. В. АЛЕЙНИКОВА,
⁵А. Н. ТЫРСИН, ³Я. И. ИСАЙКИНА, ⁴А. Н. ЯКОВЛЕВ, ⁴Ю. В. ТРИШИНА

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА МОТОРНЫЕ ФУНКЦИИ И УМСТВЕННО-РЕЧЕВОЕ РАЗВИТИЕ У ДЕТЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь, ²РНПЦ «Мать и дитя», Минск, Беларусь, ³РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь, ⁴Минский городской центр медицинской реабилитации детей с психоневрологическими заболеваниями, Минск, Беларусь, ⁵Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Детский церебральный паралич (ДЦП) представляет собой симптомокомплекс двигательных расстройств, развившихся в результате повреждения ЦНС в пре- и перинатальном периодах, часто сочетающихся с умственной недостаточностью и нарушением речи. Традиционные реабилитационные методики, направленные на стимулирование психосоциальных возможностей и двигательных функций ребенка с ДЦП, носят симптоматический характер. Воздействовать на патогенез данного заболевания возможно с помощью современных клеточных технологий.

Цель исследования. Оценка динамики моторного и умственно-речевого развития детей, прошедших двухэтапную аллотрансплантацию мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и полный реабилитационный курс.

Материалы и методы. Объектом исследования стали 24 ребенка с диагнозом ДЦП и спастическим характером нарушения походки, 8 из которых прошли лечение МСК и курсы реабилитации и 16 пациентов — только курсы реабилитации. Методами компьютерного видеоанализа походки и стабилотрии исследовали статокINETические и статические параметры пациентов. При осмотрах логопеда и психолога оценивали динамику умственно-речевого развития детей.

Результаты. Пациенты, прошедшие трансплантацию МСК, имеют в 2,3 раза более высокие результаты динамики моторных функций и в 1,9 раза лучшую динамику умственно-речевого развития по сравнению с пациентами без трансплантации МСК.

Заключение. Отмечена безопасность применения МСК в лечении пациентов с ДЦП.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, мезенхимальные стволовые клетки, динамика умственно-речевого и моторного развития.

Childish cerebral palsy (CP) is a symptomatic complex of motor disorders that result from central nervous system damage in the pre- and perinatal periods often combined with mental deficiency and speech impairment. The traditional rehabilitation methods aimed at stimulating the CP child's psychosocial capabilities and motor functions are symptomatic. It is possible to influence the pathogenesis of this disease with modern stem cell techniques.

Objective. The aim of this study was to assess the dynamics of the motor and mental development of children who underwent the mesenchymal stem cells (MSC) two-stage allotransplantation and full rehabilitation course.

Materials and methods. Twenty four children diagnosed CP and demonstrating the gait disturbance spastic nature including eight children exposed to the MSC treatment and undergone rehabilitation courses and sixteen patients undergone rehabilitation courses only. Methods of computed video analysis of gait and stabilometry were used to study the patients' statokinetic and static parameters. While being examined, a speech therapist and a psychologist evaluated the dynamics of the mental and speech development of children.

Results. The analysis of the obtained results showed that the patients who had been exposed to the MSC transplantation had 2.3 times higher results of the motor function dynamics and 1.9 times better dynamics of the mental and speech development in comparison with the patients who had not undergone the MSC transplantation.

Conclusion. The MSC transplantation had be noted to be safe for treating patients with CP.

Key words: cerebral palsy, mesenchymal stem cells, dynamics of mental-speech and motor development.

HEALTHCARE. 2018; 8: 62—67.

EFFECTS OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON MOTOR FUNCTIONS AND MENTAL-SPEECH DEVELOPMENT IN CHILDREN WITH INFANTILE CEREBRAL PALSY

L. V. Shalkevich, D. V. Ostroushko, O. V. Aleynikova, A. N. Tyrsin, Ya. I. Isaykina, A. N. Yakovlev, Yu. V. Trishina

Детский церебральный паралич (ДЦП) представляет собой симптомокомплекс двигательных нарушений с большим клиническим полиморфизмом как двигательных, так и умственно-речевых расстройств. В Республике Беларусь в конце 2016 г. общая заболеваемость ДЦП составила 2,56 случая на 1000 детей в возрасте от 0 до 17 лет. Поиск новых методик, оказывающих положительное влияние на психомоторное развитие и качество жизни пациентов с ДЦП, является актуальной и современной задачей детской неврологии. Спектр возможных лечебных и реабилитационных методов для борьбы с данным инвалидизирующим заболеванием разнообразен. По определению Всемирной организации здравоохранения, реабилитация представляет собой комплексное и скоординированное использование медицинских, социальных, обучающих и профессиональных подходов к подготовке или переподготовке социально дезадаптированной личности с целью достижения высшей степени реализации функциональных особенностей [1]. Тем самым реабилитация представляет собой симбиоз медицины, педагогики и психологии, целью которых является максимальная социальная адаптация ребенка. Для лечения пациентов с ДЦП используются функциональные методы терапии, медикаментозное лечение, консервативное ортопедическое лечение, методы функциональной нейрохирургии и ортопедо-хирургическое лечение, разнообразные психотерапевтические, игровые методики и иппотерапия [2—7]. При всей трудоемкости проведения такой терапии отмечается низкая эффективность разработанных методик и нестойкость достигнутых результатов, вследствие отсутствия прямого влияния на причину заболевания — дефекты нейронов и олигодендроцитов.

В настоящее время в неврологическую клиническую практику внедряются новые методы лечения, связанные с применением клеточной терапии, показавшие положительные результаты при лечении многих неврологических заболеваний как у взрослых, так и у детей [8—10]. Кроме этого, эффективность применения стволовых клеток была доказана в преклинических испытаниях на животных с двигательными нарушениями, что обусловило возможность применения стволовых клеток для лечения ДЦП [11, 12]. В терапии данного заболевания исполь-

зуются различные клеточные линии, каждая из которых демонстрирует специфические регенеративные способности [13—16]. Наибольший интерес для лечения ДЦП представляют мезенхимальные стволовые клетки (МСК), которые в центральной нервной системе способствуют усилению роста ткани и уменьшению области повреждения и воспаления, активации ангиогенеза и стимуляции роста аксонов, оказывают иммунокорректирующее действие [17, 18].

Для оценки коммуникативных, умственных и речевых способностей, навыков самообслуживания у пациентов с ДЦП разработаны многочисленные шкалы [19, 20]. Несмотря на их большое количество, в настоящее время не существует единого стандартизированного подхода в работе с ними. Выбор той или иной шкалы в большинстве случаев определяется личными предпочтениями исследователя.

В диагностике двигательных нарушений и контроля эффективности проводимой стволовой терапии у пациентов с ДЦП традиционно используются методы балльной оценки степени выраженности парезов и моторных навыков, которые отличаются сложностью проведения и малой объективностью получаемых данных [21—23]. Кроме того, имеющиеся методы исследования не позволяют комплексно оценить объем и выраженность всех видов двигательных нарушений у пациента. Поэтому в последние годы все больше внимания уделяется методикам, объективизирующим информацию о нарушениях локомоции и постурального баланса. Среди современных технологий, получивших развитие в последние десятилетия, выделяется метод компьютерного видеоанализа походки (КВП), позволяющий объективно комплексно оценить двигательные отклонения и осуществлять динамический контроль за течением патологического процесса [24, 25]. Для изучения состояния функции равновесия организма используется метод компьютерной стабиллометрии [26, 27], который позволяет проводить диагностику, оценивать состояние двигательного-координационного сферы, а также контролировать результаты реабилитации пациентов с ДЦП.

Цель настоящего исследования — анализ эффективности использования МСК у детей с ДЦП, прошедших двухэтапную трансплантацию МСК, по динамике моторных функций и умственно-речевого развития.

Материал и методы

В рамках выполнения научно-исследовательской работы «Разработать метод применения МСК для комплексного лечения детей с ДЦП» государственной научно-технической программы «Новые технологии диагностики, лечения и профилактики», № госрегистрации 20150894 от 18.06.2015 сотрудниками ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии и Минского городского центра медицинской реабилитации детей с психоневрологическими заболеваниями совместно разработана методика комплексного лечения пациентов с ДЦП, включающая внутривенное и спустя 2 нед интратекальное введение аллогенных МСК с проведением в последующие 6 мес трех реабилитационных курсов: через 2 нед, 2 и 6 мес после интратекального введения МСК. Разработанная методика предполагала аллотрансплантацию МСК в количестве не менее $1,0 \cdot 10^6/\text{кг}$ МСК при внутривенном введении и от 2 до $6 \cdot 10^6/\text{кг}$ МСК в 3 мл 0,9% раствора NaCl при интратекальном введении с последующей оценкой возможных нежелательных явлений.

Объектом исследования явились 8 пациентов (основная группа) с установленным диагнозом ДЦП в возрасте от 6 до 12 лет на момент отбора в исследование, спастическим характером двигательных нарушений, соответствующих 2—3 уровню по Системе классификации больших моторных функций (GMFCS). Группу сравнения составили 16 детей аналогичного возраста с равнозначными неврологическими нарушениями, прошедшие только курсы реабилитации без аллотрансплантации МСК. Перед началом исследования и после каждого реабилитационного курса у всех пациентов оценива-

ли соматический и неврологический статус, а также применяли параклинический метод диагностики — стабилometriю на компьютерном стабиланализаторе «Стабилан-01» («ОКБ Ритм», Россия) и КВП на аппаратно-программном комплексе «Нейро-КМ» с программным обеспечением Startrace («Нейрософт», Россия). Для анализа динамики статикинетических характеристик пациентов по данным КВП определяли среднюю продолжительность одноопорного периода (с), среднюю продолжительность периода переноса (с) и среднюю продолжительность периода опоры (с). Статическую устойчивость устанавливали по двум показателям стабилometriи: скорость перемещения центра давления с закрытыми глазами (мм/с) и скорость перемещения центра давления с открытыми глазами (мм/с). Осмотры у психолога и логопеда позволяли изучать динамику умственного развития и речевых функций пациентов в обеих группах. Критерии наблюдения проводимого психологопедического осмотра представлены в табл. 1 и 2.

Статистическая обработка полученных результатов включала проведение многомерного сравнительного анализа с применением программы STATISTICA 6.1.

Результаты и обсуждение

На основании полученных результатов статикинетических и статических характеристик пациентов по данным КВП и стабилometriи выведен единый интегративный показатель, являющийся средним квадратичным значением относительных отклонений показателей от эталонных значений [28]. Он рассчитывался на основании средних значений трех показателей КВП и двух показателей стабилometriи, приведенных выше. Снижение интегративного

Таблица 1

Критерии психологического осмотра детей с ДЦП

Критерий	Оценка, балл
Общительность	Сопrotивляется всем предложениям и просьбам — 3; не сопротивляется, но пассивен во взаимодействии — 2; общается, вступает во взаимодействие — 1; инициативен во взаимодействии — 0
Общий эмоциональный фон	Неустойчив (эмоциональная лабильность) — 3; снижен — 2; повышен — 1; стабилен, эмоции адекватные — 0
Внимание	Устойчивое, продуктивное — 0; неустойчивое, рассеянное — 1; низкая произвольность внимания — 2
Объем кратковременной оперативной памяти	Норма — 0; снижен — 1; ниже нормы — 2
Темп психической активности	Норма — 0; нестабилен — 1; низкий — 2

Таблица 2

Критерии логопедического осмотра детей с ДЦП

Критерий	Оценка; балл
Степень разборчивости речи	Соответствует возрасту — 0; не соответствует, но понятна посторонним — 1; понятна только близким — 2; непонятна — 3
Корень языка	Напряжен, язык комом оттянут назад: нет — 0; в незначительной степени — 1; в значительной степени — 2
Возможность производить подъем языка	Нет — 0; амплитуда движений несколько снижена — 1; в полном объеме — 2
Гиперсаливация	Нет — 0; при определенных условиях — 1; всегда значительная — 2
Понимание обращенной речи	Соответствует возрасту — 0; снижено понимание — 1; на бытовом уровне — 2; образную речь не понимает — 3
Активная речь	Соответствует возрасту — 0; фраза развернутая, предложная, встречаются аграмматизмы, связанные со словообразованием и словоизменением по косвенным падежам — 1; фраза развернутая, беспредложная, аграмматичная — 2; речь фразовая, аграмматичная, предложная — 3; произносит отдельные слова — 4; гуление, лепет, звукоподражание — 5; спонтанная голосовая активность — 6
Звукопроизношение	Соответствует возрасту — 0; нарушено в одной группе звуков — 1; нарушено в нескольких группах звуков — 2; нарушено полиморфно — 3
Слоговая структура слов	Не нарушена — 0; нарушена в сложных словах — 1; во многих словах нарушена — 2; в большинстве слов нарушена — 3

показателя свидетельствовало об улучшении локомоции пациента и его способности удерживать вертикальную позу.

Оценка результативности двухэтапной аллотрансплантации МСК выявила снижение интегративного показателя статических и статокINETических параметров у пациентов основной группы после 1-го курса реабилитации на 32,4% по сравнению с исходным уровнем. После 2-го курса данный показатель снизился на 50,8% по сравнению с первоначальными данными. После 3-го курса отмечались стабилизация достигнутого результата лечения и снижение интегративного показателя на 46,5% от исходных значений. В группе сравнения после 1-го курса аналогичный показатель снизился на 32,4% от исходных значений, после 2-го курса — на 18,1%, после 3-го курса — на 20,1% по сравнению с исходными данными. Таким образом, итоговая результативность комплексного метода лечения, включающего двухэтапную аллотрансплантацию МСК в 2,3 раза выше, чем аналогичный, состоящий только из стандартного реабилитационного курса.

Эффективность двухэтапной трансплантации МСК и ее влияние на умственно-речевое развитие рассчитывали по интегративному показателю, выведенному с учетом результатов логопедического осмотра и психологического обследования (рис. 1 и 2). Его снижение свидетельствует о положительной динамике в умственно-речевом развитии ребенка.

У пациентов основной группы отмечалось улучшение умственного развития и речевых функций по интегративному показателю по сравнению с пациентами из группы сравнения. Так, после 1-го курса он снижался на 8,1%, после 3-го —

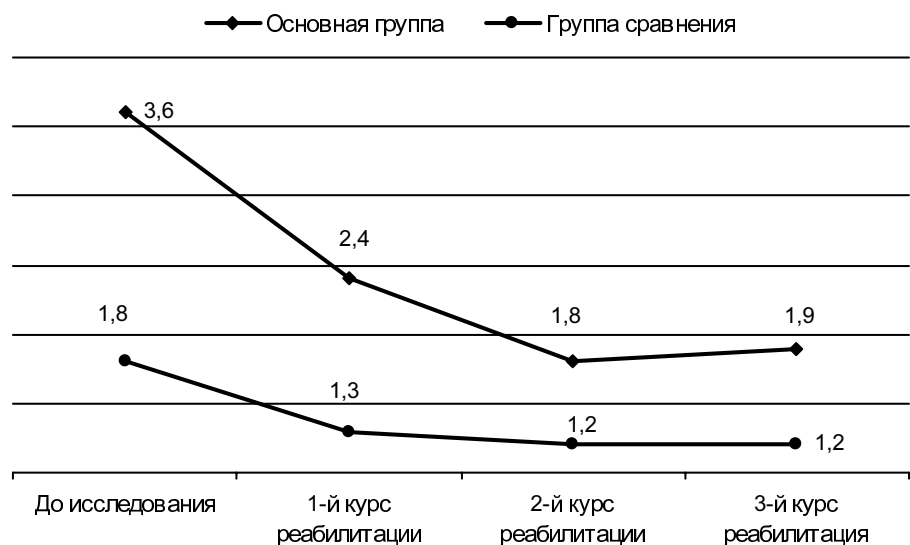


Рис. 1. Интегративный показатель статокINETических и статических параметров у пациентов с ДЦП со спастической формой нарушения походки

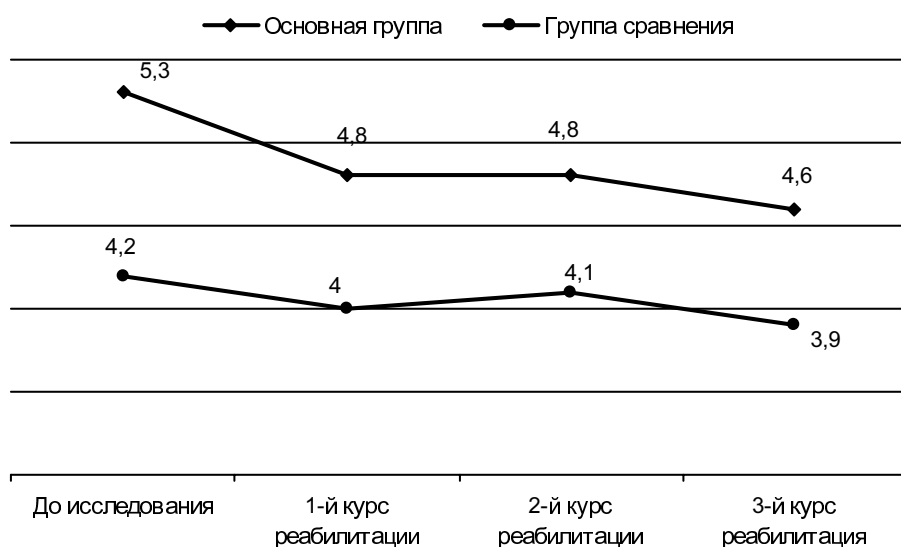


Рис. 2. Динамика интегративного показателя умственно-речевого развития у пациентов с ДЦП со спастической формой нарушения походки

на 12,4%. В группе сравнения динамика была не так выражена, отмечалось снижение интегративного показателя на 4,7% после 1-го и на 7,1% после 3-го реабилитационных курсов. Применение МСК оказывало положительное влияние на динамику умственно-речевого развития. Результативность данного метода была в 1,9 раза выше по сравнению со стандартным курсом реабилитации, что сопоставимо с эффективным влиянием МСК на моторные функции, однако не так выражена.

Наблюдение за пациентами основной группы показало отсутствие нежелательных явлений при внутривенном этапе введения МСК и развитие умеренно выраженной реакции на введение биомедицинского клеточного продукта, содержащего аллогенные МСК при интратекальном введении, проявлявшейся головной болью, тошнотой, рвотой, гипертермией, менингеальными знаками у 5 пациентов из 8. Осложнение возникало через 6—12 ч после введения стволовых клеток, купировалось назначением постельного режима, анальгетиков, мочегонных препаратов. Данную симптоматику расценивали как реакцию на увеличение объема циркулирующей в ликворопроводящих путях жидкости. Серьезные нежелательные явления не отмечены, что подтверждает безопасность метода двухэтапной аллотрансплантации МСК [27, 29].

Выводы. Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что включение в комплексное лечение

детей с ДЦП метода двухэтапной трансплантации МСК, заключающейся во внутривенном и интратекальном введении стволовых клеток, является эффективным и улучшает показатели моторных функций и умственно-речевого развития почти в 2 раза по сравнению с пациентами, прошедшими только стандартный реабилитационный курс. Длительность сохранения эффективности стволовой терапии после проведения трансплантации составляет более 6 мес.

МСК оказывают более выраженное положительное влияние на локомоторные и поструральные расстройства пациентов с ДЦП, чем на умственно-речевое развитие.

Разработанный метод двухэтапной трансплантации аллогенных МСК является безопасным и не сопровождается развитием серьезных нежелательных явлений при его применении.

Контактная информация:

Шалькевич Леонид Валентинович — к. м. н., зав. кафедрой детской неврологии.

Белорусская медицинская академия последипломного образования.
Ул. П. Бровки 3, кор. 3, 220013, г. Минск.
Сл. тел. +375 17 233-55-22.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: Л. В. Ш., Д. В. О., О. В. А., Я. И. И., А. Н. Я., Ю. В. Т.

Сбор и обработка материала: А. Н. Т.

Написание текста: Д. В. О.

Редактирование: Л. В. Ш., Д. В. О.

Конфликт интересов отсутствует.

REFERENCES

1. World Health Organization. *International Classification of Functioning, Disability and Health (ICF)*. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2001.
2. Lynn A. K., Turner M., Chambers H.G. *Surgical management to spasticity in persons with cerebral palsy*. *PM R*. 2009; 1(9): 834—8.
3. Shalkevich L. V., Yakovlev A. N. *Medicamentous rehabilitation of children with a syndrome of muscle weakness and hypotension*. *Meditinskije novosti*. 2007; 14: 72. (in Russian)
4. Barbeau H. *Locomotor training in neurorehabilitation emerging rehabilitation concepts*. *Neurorehabil. Neural Repair*. 2003; 17: 3—11.

5. Bjarkam C. R., Glud A. N., Margolin L., et al. Safety and Function of a New Clinical Intracerebral Microinjection Instrument for Stem Cells and Therapeutics Examined in the Guttingen Minipig. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 2010; 88: 56—63.
6. Stets N. I., Lukashenko P. V., Shalkevich L. V. Results of application of hippotherapy for children with a cerebral palsy and other pathologies of cerebral genesis. *Ippoterapiya. Invalidnyy konnyy sport. Opyt i perspektivy: materialy IV mezhr regionalnoy konferentsii, 1—2 may 2011. Sankt-Peterburg; 2011: 69—79. (in Russian)*
7. Shalkevich L. V., Malash A. V. Metabolic therapy of diseases of childish nervous system with medicines on the basis of carnitine. *Meditinskije novosti.* 2016; 1: 28—32. (in Russian)
8. Sharma A., Sane H., Badhe P., et al. Autologous bone marrow stem cell therapy shows functional improvement in hemorrhagic stroke: a case study. *Indian J. Clin. Pract.* 2012; 23(2): 100—5.
9. Guzman R., Bliss T., De Los Angeles A., et al. Neural progenitor cells transplanted into the uninjured brain undergo targeted migration after stroke onset. *J. Neurosci. Res.* 2008; 86: 873—82.
10. Honmou O., Houkin K., Matsunaka T., et al. Intravenous transplantation of autologous mesenchymal stem cells derived from bone marrow into stroke patients. *Stroke.* 2008; 39: 539—43.
11. Rosenkranz K., Kumbruch S., Tenbusch M., et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells mediated beneficial effects on apoptosis, angiogenesis and neuronal survival after hypoxic-ischemic brain injury in rats. *Cell Tissue Res.* 2012; 348(3): 429—38.
12. Li Y., Tu L., Chen D., et al. Study on functional recovery of hypoxic-ischemic brain injury by Rg1-induced NSCs. *China J. Chinese Materia Medica.* 2012; 37(4): 509—14.
13. Hass R., Kasper C., Bohm S., et al. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): a comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun. Signal.* 2011; 9: 12—5.
14. Erices A., Conget P., Minguell J. J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br. J. Haematol.* 2000; 109: 235—42.
15. Ra J. C., Shin I. S., Kim S. H., et al. Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. *Stem Cells Dev.* 2011; 20: 1297—308.
16. Shroff G., Gupta A., Barthakur J. K. Therapeutic potential of human embryonic stem cell transplantation in patients with cerebral palsy. *J. Transl. Med.* 2014; 312: 318.
17. Crigler L., Robey R. C., Asawachaicham A., et al. Human mesenchymal stem cell subpopulations express a variety of neuroregulatory molecules and promote neuronal cell survival and neurogenesis. *Exp. Neurol.* 2006; 198: 54—64.
18. Kranz A., Wagner D. C., Kamprad M., et al. Transplantation of placenta-derived mesenchymal stromal cells upon experimental stroke in rats. *Brain.* 2010; 1315: 128—36.
19. Hidecker M. J. C., Paneth N., Rosenbaum P. L., et al. Developing and validating the Communication Function Classification System (CFCFS) for Individuals with Cerebral Palsy. *Dev. Med. Child. Neurol.* 2011; 53: 704—10.
20. Mahoney F. I., Barthel D. Functional evaluation: the Barthel Index. *Maryland State Med. J.* 1965; 14: 56—61.
21. Eliasson A. C., Krumlinde Sundholm L., Rosblad B., et al. The Manual Ability Classification System (MACS) for children with cerebral palsy: scale development and evidence of validity and reliability. *Dev. Med. Child. Neurol.* 2006; 48: 549—54.
22. Bohannon R. W., Smith M. B. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Physical Ther.* 1987; 67 (2): 206—7.
23. Russell D. J., Rosenbaum P. L., Avery L. M., Lane M. *Gross Motor Function Measure (GMFM-66 & GMFM-88): user's manual.* London: Mac Keith Press; 2002.
24. Howse R. B., Calcins S. D., Anastopoulos A. D., et al. Regulatory contributors to children's kindergarten achievement. *Early Educ. Develop.* 2003; 14: 101—19.
25. Mundermann I., Corazza S., Andriacchi T. The evolution of methods for the capture of human movement leading to marker less motion capture for biomechanical applications. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2006; 3: 6.
26. Skvortsov D. V. Theoretical and practical aspects of modern post-urology. *Materialy I Mezhdunarodnogo simpoziuma. Klinicheskaya posturologiya, poza I prikus. Sankt-Peterburg.* 2004: 30—2. (in Russian)
27. Shalkevich L. V., Ostroushko D. V., Aleynikova O. V., et al. Dynamics of static and kinetic parameters of gait in child with spastic cerebral palsy after applying mesenchymal stem cells. *Innovatsionnye tekhnologii v meditsine.* 2018; 1: 59—65. (in Russian)
28. Keefe F. J., Hill R. W. An objective approach to quantifying pain behavior and gait patterns in low back pain patients. *Pain.* 1985; 21: 153—61.
29. Shalkevich L. V., Aleynikova O. V., Isaykina Ya. I., et al. Methods of treatment and medical rehabilitation of children with cerebral palsy. *Instruction for application 103-1116, RB; 2016. (in Russian)*

Поступила 15.06.18.