

Проспективное наблюдение эффективности и безопасности применения мезенхимальных стволовых клеток у детей с детским церебральным параличом

Шалькевич Л.В.¹, Остроушко Д.В.², Алейникова О.В.³, Тырсин А.Н.⁵, Яковлев А.Н.⁴, Тришина Ю.В.⁴, Исайкина Я.И.³

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

²Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь

³Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

⁴Минский городской центр медицинской реабилитации детей с психоневрологическими заболеваниями, Беларусь

⁵Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

Shalkevich L.V.¹, Ostroushko D.V.², Aleynikova O.V.³, Tyrsin A.N.⁵, Yakovlev A.N.⁴, Trishina Y.V.⁴, Isaykina Ya.I.³

¹Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk

²Mother and Child National Research Center, Minsk, Belarus

³Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

⁴Center of Medical Rehabilitation of Children with Neuropsychiatric Diseases, Minsk, Belarus

⁵Ural Federal University named after first President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

Prospective efficacy and safety observation of mesenchymal stem cells use in children with cerebral palsy

Резюме. Проведена реабилитация 30 пациентов с детским церебральным параличом (ДЦП), из них 11 детей основной группы прошли двухэтапную аллотрансплантацию мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и 19 пациентов составили группу сравнения. Оценка выраженности и стойкости полученных эффектов осуществлялась компьютерным видеоанализом походки и стабилόμεтрией. Всем детям основной группы до трансплантации и в период от года до трех лет после нее проводилась магнитно-резонансная томография головного мозга. Отмечены пролонгированный эффект МСК в отношении моторных функций и более высокая результативность первого реабилитационного курса у пациентов основной группы. Эффективность стволовой терапии выше у пациентов со спастическим характером нарушения походки по сравнению с пациентами с атактическими нарушениями и не зависит от клеточности введенного аллотрансплантата МСК. Серьезных нежелательных явлений зафиксировано не было.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, мезенхимальные стволовые клетки, проспективное наблюдение, эффективность, безопасность.

Медицинские новости. – 2018. – №8. – С. 55–57.

Summary. Rehabilitation of 30 patients with cerebral palsy (CP) was performed, 11 of them in the main group underwent two-stage allotransplantation of mesenchymal stem cells (MSC) and 19 patients made a comparison group. Evaluation of the severity and stability of the effects obtained was carried out by computer video analysis of gait and stabilometry. All the children of the main group had magnetic resonance imaging of the brain before transplantation and over 1–3 years afterwards. A prolonged effect of MSC on motor functions and a higher effectiveness of the first rehabilitation course in patients of the main group were noted. The efficacy of stem therapy is higher in patients with spastic gait disorder compared to patients with atactic disorders, and does not depend on the cellularity of the introduced MSC allograft. There were no serious adverse events.

Keywords: cerebral palsy, mesenchymal stem cells, prospective observation, efficacy, safety.

Meditsinskie novosti. – 2018. – N8. – P. 55–57.

Детский церебральный паралич (ДЦП) представляет собой группу непрогрессирующих моторных нарушений с большим клиническим полиморфизмом, сформировавшихся вследствие перинатального повреждения центральной нервной системы (ЦНС). В экономически развитых странах частота ДЦП составляет 2,2–2,9 на 1000 детского населения [10, 16]. В Республике Беларусь в 2017 году заболеваемость данной патологией составила 2,59 случая на 1000 детского населения в возрасте до 18 лет. Предрасполагающими факторами к развитию ДЦП являются наличие хориоамнионита и преждевременные роды, инфекционные заболевания матери и новорожденного, задержка внутриутробного развития плода, энцефалопатия новорожденного, родовые травмы ЦНС, гетерогенная генетическая предрасположенность [2, 6, 26]. Прена-

тальные гипоксия и ишемия на фоне воспалительных изменений тканей головного мозга являются основными триггерами повреждения белого вещества головного мозга и развития перивентрикулярной лейкомаляции – наиболее часто встречающегося морфологического субстрата ДЦП [8]. Вызывает трудности определение точной причины развития заболевания в каждом конкретном случае, поскольку его развитие вызвано, как правило, сочетанием нескольких вышеперечисленных факторов [20, 22]. Многофакторность повреждающих механизмов обуславливает трудности в выборе конкретного метода лечения. Для терапии ДЦП используются как неинвазивные функциональные методы, так и разнообразные нейрохирургические и ортопедохирургические методики. Однако при всей трудоемкости проведения такой терапии отмечается отсутствие прямого

воздействия на причину развития ДЦП – структурное повреждение вещества головного мозга в виде многочисленных дефектов нейронов, олигодендроцитов и патологической активности микроглии.

В настоящее время происходит внедрение новых методов лечения, связанных с применением различных клеточных линий, показавших положительные результаты в лечении неврологических заболеваний, в том числе ДЦП [14, 29]. Широко используются клеточные технологии в лечении ДЦП благодаря способности стволовых клеток (СК) к восстановлению нервной ткани, что клинически проявляется снижением степени выраженности центральных парезов, улучшением мелкой моторики и навыков самообслуживания, положительной динамикой в психоэмоциональной сфере ребенка, повышением внимания [1, 3, 4,

21, 29]. Наибольший интерес для лечения ДЦП представляют мезенхимальные стволовые клетки (МСК), которые в ЦНС способствуют усилению активности экзогенных прогениторных клеток, снижению патологической активности микроглии, активации ангиогенеза и стимуляции роста аксонов, оказывают системное иммунокорректирующее действие [10, 19].

Вопрос использования стволовой терапии в детской неврологической практике сопряжен с обязательной доказательной обоснованностью не только безопасности, но и эффективности данного вида терапии. Традиционно контроль над эффективностью клеточной терапии у пациентов с ДЦП осуществляется с использованием динамического тестирования моторных функций, которые отличаются сложностью проведения и малой объективностью получаемых данных [6, 12, 13]. Кроме того, имеющиеся методы исследования не позволяют комплексно оценить объем и выраженность всех видов двигательных нарушений у пациента. Поэтому в последние годы все большее внимание уделяется методикам, объективирующим информацию о нарушениях локомоции и постурального баланса. Среди современных технологий, получивших развитие за последние десятилетия, выделяется метод компьютерного видеоанализа походки (КВП) и метод компьютерной стабиллометрии, позволяющие объективно комплексно оценить двигательные отклонения и осуществлять динамический контроль над течением патологического процесса [5, 17, 25].

Стволовая терапия в лечении ДЦП доказала свою безопасность и эффективность в многочисленных исследованиях [15, 23, 24]. Тем не менее некоторые авторы отмечают развитие герпетической и цитомегаловирусной инфекции у пациентов после трансплантации СК, судороги, реакцию отторжения трансплантата против хозяина, полиорганную недостаточность, энцефалит, лихорадку и рвоту [8, 21, 28, 30, 31]. Несмотря на то, что в большинстве выполненных исследований авторы указывают на отсутствие побочных эффектов при терапии МСК у пациентов с ДЦП [1, 4], есть сообщения J.C. Ra [27] о единичных случаях болей в груди, небольшом повышении температуры, фурункуле на бедре, скелетно-мышечной боли, болезненности шеи и плеча после трансплантации МСК.

Все вышеперечисленные исследования оценивали безопасность и эффективность,

как правило, в раннем посттрансплантационном периоде либо в динамике первых 6 месяцев после трансплантации СК.

Цель исследования – провести анализ собственных результатов применения МСК с проспективной оценкой эффективности и безопасности данной терапии у 11 детей с ДЦП.

Материалы и методы

В 2014–2016 годах выполнялась научно-исследовательская работа «Разработка метода применения мезенхимальных стволовых клеток для комплексного лечения детей с детским церебральным параличом» в рамках государственной научно-технической программы «Новые технологии диагностики, лечения и профилактики» (№ госрегистрации 20150894 от 18.06.2015) сотрудниками кафедры детской неврологии Белорусской медицинской академии последипломного образования совместно со специалистами Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии и Минского городского центра реабилитации для детей с психоневрологическими заболеваниями. Была разработана методика комплексного лечения пациентов с ДЦП, включающая двухэтапную аллотрансплантацию МСК и три курса реабилитации. Двухэтапная аллотрансплантация МСК предполагала введение в количестве не менее $1,0 \times 10^6$ /кг массы тела реципиента МСК при внутривенном введении и от 2 до 6×10^6 МСК в 3 мл 0,9% раствора NaCl при интратекальном введении [4]. Оценка эффективности и безопасности согласно дизайну исследования проводилась на протяжении первых 6 месяцев после введения МСК. Основную группу составили 11 пациентов с установленным диагнозом ДЦП в возрасте от 6 до 12 лет на момент отбора в исследование спастического (9 пациентов) и атактического (3 пациента) характера двигательных нарушений 2–3 уровня по GMFCS (Система классификации больших моторных функций). Группа сравнения включала 19 пациентов аналогичного возраста и с равнозначными неврологическими нарушениями, прошедших только курсы реабилитации без аллотрансплантации МСК. Перед началом исследования и после каждого реабилитационного курса все пациенты проходили обследование на компьютерном стабиллоанализаторе «Стабилан-01» («ОКБ Ритм», РФ) и КВП на аппаратно-программном комплексе «Нейро-КМ» с программным обеспечением «Startrace» («Нейрософт», РФ). Для анализа динамики статокINETических

характеристик пациентов по данным КВП оценивались средняя продолжительность одноопорного периода (с), средняя продолжительность период переноса (с) и средняя продолжительность период опоры (с). Статическую устойчивость определяли по двум показателям стабиллометрии: скорость перемещения центра давления с закрытыми глазами (мм/с) и скорость перемещения центра давления с открытыми глазами (мм/с). Пациентам, включенным в основную группу, до введения МСК проводилась нейровизуализация структур головного мозга методом магнитно-резонансной томографии или рентгеновской компьютерной томографии. Для оценки длительности сохранения эффектов стволовой терапии и отдаленных результатов безопасности ее применения в период от года до трех лет пациенты основной группы повторно проходили обследование аппаратными и нейровизуализирующими методами контроля.

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

Результаты и обсуждение

На основании полученных результатов статокINETических и статических характеристик пациентов по данным КВП и стабиллометрии выведен единый интегративный показатель, являющийся средним квадратичным значением относительных отклонений показателей от эталонных значений [18]. Он рассчитывался на основании средних значений трех показателей КВП и двух показателей стабиллометрии, приведенных выше. Снижение интегративного показателя свидетельствовало об улучшении локомоции пациента и способности удерживать им вертикальную позу.

Оценка результативности двухэтапной аллотрансплантации МСК спустя 6 месяцев выявила снижение интегративного показателя статических и статокINETических параметров пациентов основной группы со спастическим характером нарушения походки с 3,6 до 1,9, что соответствует снижению на 46,5% по сравнению с исходным уровнем. В группе сравнения после третьего курса данный показатель снизился на 20,1% (с 1,8 против 1,2). Таким образом, итоговая результативность комплексного метода лечения, включающего двухэтапную аллотрансплантацию МСК, в 2,3 раза выше, чем стандартный реабилитационный курс. У пациентов основной группы с атактическим характером нарушения походки интегративный показатель в конце третьего

Таблица Динамика эффективности реабилитационных курсов у пациентов основной группы и группы сравнения			
Пациенты (n=30)	1-й курс реабилитации (% улучшения)	2-й курс реабилитации (% улучшения)	3-й курс реабилитации (% улучшения)
Основная группа (n=11)	29,23%	15,44%	3,99%
Группа сравнения (n=19)	24,56%	6,74%	0,07%

курса реабилитации составил 3,9, что на 39,1% ниже по сравнению с исходным показателем (6,5). У пациентов группы сравнения с аналогичными двигательными нарушениями интегративный показатель после третьего курса был равен 3,1, что на 36,6% ниже первоначального значения (5,0).

При обследовании детей основной группы со спастическим характером нарушения походки в период от года до трех лет после проведения аллотрансплантации МСК интегративный показатель снизился на 53,3% от исходного значения (с 3,6 до 1,6), что с результатом первоначального шестимесячного периода выше на 6,7%. Полученные данные говорят о длительном сохранении эффектов положительного влияния МСК на локомоторные и поструральные нарушения у пациентов с ДЦП. Наблюдения за пациентами с атактическим характером нарушения походки выявили снижение интегративного показателя на 13,6% по сравнению с исходным значением (с 6,5 до 5,6), что на 25,5% хуже по сравнению с полугодовым показателем.

Оценка эффективности каждого реабилитационного курса по сравнению с предыдущим у пациентов основной группы и группы сравнения со спастическим и атактическим характером нарушения походки выявила максимально высокую результативность в обеих группах первого курса при сравнении с последующими двумя. Полученные данные представлены в таблице.

Для описания двигательных нарушений и оценки функционального состояния у пациентов основной группы использовалась система GMFCS. Выявлено проспективное уменьшение функционального уровня на один у трех пациентов из 11. Поскольку у каждого ребенка с ДЦП уровень моторики по GMFCS не меняется и стабилен в течение всей жизни, полученные результаты говорят о высокой результативности применения МСК.

Кроме этого, нами не была отмечена статистически значимая корреляция между клеточностью вводимого трансплантата как при внутривенном, так и при интратекальном введении, и после-

дующей динамикой моторных функций у пациентов основной группы.

Нами отмечены отсутствие нежелательных явлений при внутривенном пути введения МСК и развитие умеренно выраженной реакции на введение биомедицинского клеточного продукта, содержащего аллогенные МСК, при интратекальном введении. Серьезные нежелательные явления не были зарегистрированы, что подтверждает безопасность метода двухэтапной аллотрансплантации МСК [4, 5]. Сравнительный анализ результатов нейровизуализирующих методов у пациентов основной группы не определил отрицательную динамику в выявленных первоначально структурных изменениях тканей головного мозга и ликворопроводящей системе.

Выводы:

1. Включение в комплексное лечение детей с ДЦП метода двухэтапной аллотрансплантации МСК повышает результативность стандартного реабилитационного курса и не сопровождается развитием серьезных нежелательных явлений при его применении, а также имеет доказанную безопасность в более отдаленном периоде.

2. Выявленная положительная динамика моторных функций у пациентов после трансплантации МСК носит стойкий и длительный характер с сохранением достигнутых результатов более года после трансплантации и в некоторых случаях снижением уровня тяжести ДЦП по шкале GMFCS. Отмечена более высокая результативность первого реабилитационного курса у пациентов, прошедших аллотрансплантацию МСК.

3. Эффективность стволовой терапии выше у пациентов со спастическим характером нарушения походки по сравнению с пациентами с атактическими нарушениями и не зависит от клеточности введенного аллотрансплантата МСК.

4. Стволовая терапия не приводит к полному излечению от заболевания, однако она значительно улучшает состояние детей с ДЦП и повышает качество их жизни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Остроушко Д.В., Шалькевич Л.В. // Здоровоохранение. – 2018. – №7. – С.67–72.
2. Тырсин А.Н., Шалькевич Л.В., Остроушко Д.В., Шалькевич О.В., Геворган Г.Г. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2017. – №3. – С.595–605.
3. Шалькевич Л.В., Алейникова О.В., Исайкина Я.И., Яковлев А.Н., Дрогайцева Д.В. // Медицинские новости. – 2016. – №10. – С.4–8.
4. Шалькевич Л.В., Алейникова О.В., Исайкина Я.И., Яковлев А.Н., Тришина Ю.В., Остроушко Д.В., Гущина Л.М. // Инструкция по применению, Negoc.reg. 103-1116. – 2016.
5. Шалькевич Л.В., Остроушко Д.В., Алейникова О.В., Исайкина Я.И., Яковлев А.Н., Тришина Ю.В. // Инновационные технологии в медицине. – 2018. – №1. – С.59–65.
6. Ahlin K., Jacobsson B., Nilsson S. // Acta Obstet Gynecol Scand. – 2017. – Vol.96. – P.828–836.
7. Bohannon R.W., Smith M.B. // Physical Therapy. – 1987. – Vol.67, N2. – P.206–207.
8. Burd I., Balakrishnan B., Kannan S. // Am. J. Reprod. Immunol. – 2012. – Vol.67. – P.287–294.
9. Chik K.W., Chan P.K., Li C.K. // Bone Marrow Transplantation. – 2002. – Vol.99. – P.991–994.
10. Crigler L., Robey R.C., Asawachaicharn A. // Exp. Neurol. – 2006. – Vol.198. – P.54–64.
11. Durkin M.S., Benedict R.E., Christensen D. // Paediatr. Perinat. Epidemiol. – 2016. – Vol.30. – P.496–510.
12. Eliasson A.C., Krumlinde Sundholm L., Rosblad B. // Dev. Med. Child Neurol. – 2006. – Vol.48. – P.549–554.
13. Gross Motor Function Measure (GMFM-66 & GMFM-88): user's manual / Russell D.J., Rosenbaum P.L. [et al]. – London. – 2002.
14. Hass R., Kasper C., Bohm S. // Cell Commun. Signal. – 2011. – Vol.9. – P.12–15.
15. He S., Luan Z., Qu S., Qiu X., Xin D., Jia W. // Neural. Regen. Res. – 2012. – Vol.7. – P.2529–2535.
16. Hollung S.J., Vik T., Wiik R. // Dev. Med. Child Neurol. – 2017. – Vol.59. – P.402–406.
17. Howse R.B., Calcins S.D., Anastopoulos A.D. // Early Education and development. – 2003. – Vol.14. – P.101–119.
18. Keefe F.J., Hill R.W. // Pain. – 1985. – Vol.21. – P.153–161.
19. Kranz A., Wagner D.C., Kamprad M. // Brain. – 2010. – Vol.1315. – P.128–136.
20. Leviton A., Fichorova R.N., O'Shea T.M. // Pediatr. Res. – 2013. – Vol.73. – P.362–370.
21. Liem Thanh Nguyen, Anh Tuan Nguyen, Chinh Duy Vu, Doan V. Ngo and Anh V. Bui. // BMC Pediatrics. – 2017. – Vol.17. – P.104.
22. Lin C.Y., Chang Y.C., Wang S.T. // Ann. Neurol. – 2010. – Vol.68. – P.204–212.
23. Mancías-Guerra C., Marroquín-Escamilla A.R., González-Llano O., Villarreal Martínez L., Jaime-Pérez J.C., García-Rodríguez F // Cytotherapy. – 2014. – Vol.16. – P.810–820.
24. Min K., Song J., Kang J.Y., Ko J., Ryu J.S., Kang M.S. // Cells. – 2013. – Vol.31. – P.581–591.
25. Mündermann I., Corazza S., Andriacchi T. // J. Neuroeng. Rehabil. – 2006. – Vol.3. – P.6.
26. Nelson K.B., Blair E. // N. Engl. J. Med. – 2015. – Vol.373. – P.946–953.
27. Ra J.C., Shin I.S., Kim S.H. // Stem Cells Dev. – 2011. – Vol.20. – P.1297–1308.
28. Rubin J., Wide K., Remberger M. // Pediatric Transplantation. – 2005. – Vol.9. – P.62–67.
26. Shroff G., Gupta A., Barthakar J.K. // J. Transl. Med. – 2014. – Vol.12. – P.318.
27. Uckan D., Cetin M., Yigitkanli I. // Bone Marrow Transplantation. – 2005. – Vol.35. – P.71–76.
28. Woodward P., Helton K., McDaniel H. // Bone Marrow Transplantation. – 2004. – Vol.33. – P.1151–1157.

Поступила 04.04.2018 г.