

Оценка эффективности проведения клеточной терапии пациентам с болезнью Паркинсона с использованием различных путей трансплантации клеток

*Пономарев В. В.¹, Бойко А. В.¹, Зафранская М. М.¹,
Нижегородова Д. Б.¹, Алейникова Н. Е.¹, Чижик В. А.¹, Шмарловский Р. П.²,
Барановский А. Е.², Жуковская С. С.²*

¹Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Республика Беларусь;

*²Учреждение здравоохранения «5-я городская клиническая больница»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Лечение пациентов с болезнью Паркинсона с использованием мезенхимальных стволовых клеток — перспективный метод воздействия на многие звенья патогенеза заболевания. В то же время это сложный и пока малоизученный процесс. Нами была выполнена трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток восьми пациентам с болезнью Паркинсона. Проведена оценка ближайших результатов эффективности комбинированного и внутривенного путей введения мезенхимальных стволовых клеток на моторные симптомы у данных пациентов.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, мезенхимальные стволовые клетки, интраназальная трансплантация, внутривенная трансплантация, комбинированная трансплантация

Введение. Болезнь Паркинсона является хроническим неуклонно прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием, приводящим к выраженным двигательным нарушениям, социально-бытовой дезадаптации и снижению качества жизни пациентов. Текущая стратегия лечения болезни Паркинсона в настоящее время в основном симптоматическая и направлена на уменьшение двига-

тельных и немоторных проявлений болезни. Вместе с тем долгосрочные последствия современной заместительной или симптоматической медикаментозной терапии нередко приводят к моторным флуктуациям и лекарственным дискинезиям, при этом, к сожалению, не изменяя течение болезни Паркинсона [1]. Эти обстоятельства обосновывают необходимость поиска новых стратегий терапии болезни Паркинсона, направленной на замедление или остановку прогрессирования заболевания — терапии, изменяющей течение заболевания [2].

Существующие к настоящему времени стратегии лечения болезни Паркинсона условно можно разделить на следующие группы:

- 1) проверка существующих лекарственных средств;
- 2) терапия генных нарушений;
- 3) использование дофаминергических трофических факторов;
- 4) воздействие на альфа-синкулеин;
- 5) клеточная терапия [2].

В настоящее время одним из наиболее перспективных способов терапии болезни Паркинсона является направление, основанное на использовании клеточных технологий.

Клеточная терапия при болезни Паркинсона впервые была применена в 1979 г. Однако за последнее время, благодаря развитию биотехнологий, клеточная терапия стремительно развивается как вариант лечения, в перспективе изменяющего течение болезни.

В многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях терапии болезни Паркинсона применяют дофамин-секретирующие клетки различного происхождения, клетки фетального мезенцефалона, эмбриональные стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, стволовые клетки костного мозга (гемопоэтические и мезенхимальные), стволовые клетки из прочих источников, генетически модифицированные клетки [3]. Среди них использование мезенхимальных стволовых клеток является одним из перспективных направлений клеточной терапии многих неврологических расстройств по следующим причинам:

- их легко получить из различных тканей;
- они способны самостоятельно мигрировать в зону повреждения при введении в организм человека любым путем;
- они секретируют различные биологические факторы;
- они могут дифференцироваться в нейронные фенотипы при надлежащих условиях;
- их применение не сопровождается этическими проблемами, такими как использование эмбриональных или фетальных клеток.

За последнее время интерес к мезенхимальным стволовым клеткам в научных и клинических исследованиях возрастает в геометрической прогрессии [4]. Клинические испытания продемонстрировали возможность безопасной трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток при мозговом инсульте, рассеянном склерозе, детском церебральном параличе, амиотрофическом боковом склерозе. При болезни Паркинсона получены данные о возможности введения мезенхимальных стволовых клеток внутримозговым и внутриартериальным, интратекальным, внутривенным путем. Эффективность мезенхимальных стволовых клеток оценивали на моделях паркинсонизма у лабораторных животных.

В конце 2018 г. в Республике Беларусь нами успешно завершён доклинический этап исследований в рамках выполнения научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технологических работ по заданию 19.17 «Разработать и внедрить метод терапии болезни Паркинсона с использованием клеточных технологий» подпрограммы «Трансплантация клеток, органов и тканей» Государственной научно-технической программы «Новые методы оказания медицинской помощи» (№ госрегистрации 20171292) на базе научно-исследовательской лаборатории государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» и Института физиологии Национальной академии наук Беларуси [5]. В ноябре 2018 г. начат клинический этап данного исследования на базе учреждения здравоохранения «5-я городская клиническая больница». К августу 2019 г. накоплены первые результаты применения клеточной терапии у 8 пациентов, страдающих болезнью Паркинсона, с использованием различных путей введения мезенхимальных стволовых клеток.

Цель работы — оценка ближайших результатов эффективности комбинированного и внутривенного путей введения мезенхимальных стволовых клеток на моторные симптомы у пациентов с болезнью Паркинсона.

Материалы и методы. Клиническое обследование пациентов на этапе отбора включало сбор жалоб, анамнеза заболевания, неврологический осмотр, проведение нейровизуализации (спиральной компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии 1,5Тл).

Уточняли возраст, в котором проявилась болезнь Паркинсона, его продолжительность и тип течения, семейный анамнез по болезни Паркинсона, наличие немоторных проявлений, хронические воспалительные заболевания, значимые стрессовые ситуации, работа с гербицидами в анамнезе. Выясняли длительность применения противопаркинсонических средств, схему назначения, наличие побочных эффектов, применение другой терапии. Диагноз болезни Паркинсона устанавливали в соответствии с критериями Банка мозга Общества болезни Паркинсона Соединенного королевства (Великобритания). Клиническую стадию заболевания указывали в диагнозе в соответствии со шкалой Хён – Яр в модификации *Lindvall* и соавторов (1998 г.). До проведения интраназальной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток проводили повторный неврологический осмотр, осмотр оториноларинголога, повторно выполняли магнитно-резонансную томографию по стандартным программам. Перед проведением внутривенного введения мезенхимальных стволовых клеток проводили повторный неврологический осмотр.

Забор клеточного материала у пациентов с болезнью Паркинсона, которым в последующем планировали провести трансплантацию мезенхимальных стволовых клеток, осуществляли из задне-верхнего гребня подвздошной кости по стандартной методике.

Выделение и культивирование аутологичных мезенхимальных стволовых клеток выполнялось согласно инструкции по применению «Лечение фармакорезистентных форм рассеянного склероза с применением аутологичной трансплантации мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток» от 11 февраля 2011 г. № 003-0111.

Неврологический осмотр с оценкой моторных функций проводили в утреннее время после 12 (24)-часового перерыва в приеме противопаркинсонических препаратов (*of period*), затем через час после их приема (*on period*). Выраженность моторных симптомов болезни Паркинсона объективизировали с помощью III раздела унифицированной рейтинговой шкалы болезни Паркинсона Международного общества расстройств движений — *Unified Parkinson's disease rating scale (MDS-UPDRS)* (2008 г.) — официальная переводная версия. Подобная оценка повторно проведена через месяц после проведения трансплантации мезенхимальных стволовых клеток. Динамику вычисляли по разнице показателей на этих этапах лечения.

В январе 2019 г. на базе нейрохирургического отделения 5-й городской клинической больницы г. Минска двум пациентам с болезнью Паркинсона впервые в Республике Беларусь была осуществлена трансплантация мезенхимальных стволовых клеток.

Основываясь на литературных данных и имеющемся собственном опыте на экспериментальных животных, нами был выбран интраназальный путь введения. В ходе выполнения трансплантации первому пациенту после предварительной гигиены полости носа и носоглотки, подготовки слизистой носа турундами с раствором нафтизина внутрислизисто в область верхнего носового хода введено 10,0 млн клеток в объеме 5,5 мл клеточной суспензии, в равных количествах с двух сторон. Контроль введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток осуществляли с помощью эндоскопической ассистенции (эндоскопическая стойка *Karl Storz*). Для премедикации использовали раствор диазепама 2,0 мл внутримышечно, раствор атропина 1 мг и раствор фентанила 0,1 мг внутривенно. Анестезиологическое пособие осуществляли с помощью пропофола и эсмерона. Длительность анестезии составила 1 ч 45 мин. Непосредственная продолжительность введения стволовых клеток составила 20 мин. Пластика мест инъекций мезенхимальных стволовых клеток осуществлена пластиной Тахокомб. После чего пациенту выполнена передняя тампонада носа с обеих сторон и наложена пращевидная повязка. Для профилактики возможных постоперационных инфекционных осложнений назначен раствор цефтриаксона 1,0 мл внутримышечно за 30 мин до процедуры и затем по 2,0 мл внутривенно ежедневно № 8.

Тактика проведения интраназальной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток второму и последующим пациентам была сходной. Продолжительность проведения трансплантации составляла в среднем 20 мин. Ведение пациентов в послеоперационном периоде также не имело значимых отличий.

Дополнительно для достижения оптимальной терапевтической суммарной дозы мезенхимальных стволовых клеток было решено проводить внутривенное введение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток. Таким образом, нами был разработан комбинированный путь введения мезенхимальных стволовых клеток: интраназальный+внутривенный, который в дальнейшем был применен еще у троих пациентов.

У части пациентов был использован только внутривенный путь введения мезенхимальных стволовых клеток. Суммарную дозу вводили в три этапа с интервалом 7 дней. При этом мы стремились

к достижению сходной суммарной терапевтической дозы мезенхимальных стволовых клеток для всех пациентов (0,5–2,0 млн/кг массы тела), что позволяет провести сравнение эффективности комбинированного и внутривенного путей введения.

Результаты и их обсуждение. На данный момент под наблюдением находятся 8 пациентов с болезнью Паркинсона (6 мужчин и 3 женщины) после трансплантации мезенхимальных стволовых клеток. Возраст пациентов от 29 до 69 лет (средний возраст $50,37 \pm 11,63$ лет). У всех пациентов подтвержден диагноз «идиопатическая болезнь Паркинсона», из них 2–2,5-й стадии по Хён – Яру – 6 человек, 3-й стадии – 2 человека. Длительность заболевания составляет от 4 до 7 лет.

Пациенты отмечали значимый психологический дискомфорт, связанный с внешними проявлениями дрожания и брадикинезии. Все пациенты отмечали прогрессирование симптомов болезни Паркинсона, несмотря на комбинированную медикаментозную терапию. Стандартная терапия пациентов себя исчерпала, и дальнейшая тактика могла включать либо добавление препаратов других групп либо нейрохирургическое лечение – стимуляцию глубоких структур головного мозга. При всей своей возможной первоначальной эффективности эти методы лечения, как уже сказано выше, являются симптоматическими и не влияют на патогенетический процесс, приведший к развитию и прогрессированию болезни Паркинсона. Основываясь на вышеизложенном, мы считаем применение клеточной терапии у данных пациентов этически оправданным.

Комбинированный метод введения мезенхимальных стволовых клеток был осуществлен у 5 пациентов (у 3 мужчин, 2 женщин), внутривенный – у 3 (2 мужчин, 1 женщины).

Показания к проведению клеточной терапии определялись индивидуально с учетом ожидаемой пользы и потенциального риска.

Динамика показателей моторной функции по III части UPDRS до и через месяц после проведения трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в обеих группах пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Динамика показателей моторной функции по III части UPDRS до и через месяц после проведения трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при комбинированном и внутривенном путях введения, Me (0,25; 0,75)

Оценка по UPDRS	III ч. UPDRS off (баллы)			
	Комбинированная трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (n = 5)		Внутривенная трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (n = 3)	
	Off-период	On-период	Off-период	On-период
До трансплантации	27(25;35)	16(15;21)	40(39;39.5)	31(25.5;29.63)
Через месяц после трансплантации	23(14;31)	13(12;15)	38(37;37.75)	34(30;33)

Из таблицы 1 следует, что за указанный период наблюдения у пациентов с комбинированным путем проведения клеточной терапии выявляется положительная динамика по общему баллу III части шкалы UPDRS как в *of-*, так и в *on-period*, в то время как у пациентов с внутривенной трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток положительная динамика по общему баллу III части шкалы UPDRS четко прослеживалась лишь в *of-period*, а в *on-period* улучшение наблюдалось у одного пациента из трех, а в двух случаях имело место небольшое снижение общего балла.

Таким образом, в краткосрочном периоде наблюдения клинический терапевтический эффект при проведении комбинированной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток был сопоставим с таковым при внутривенной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток и даже превышал его.

Нельзя не отметить, что за истекший период наблюдения одна пациентка из группы с внутривенной трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток перенесла острое респираторное заболевание, сопровождавшееся повышением температуры до фебрильных значений, после чего она стала отмечать насильственные движения в шее через час после приема утренней дозы мадопара (250 мг). Данное явление было расценено нами как дискинезия пика дозы, рекомендован более дробный прием препарата и снижение общей суточной дозы мадопара на 62,5 мг ($\frac{1}{4}$ таблетки).

У 7 пациентов дозировка и схема приема медикаментозной терапии за время наблюдения не изменялась.

Серьезных осложнений, связанных с процедурой проведения трансплантации мезенхимальных стволовых клеток, не отмечено. В первые дни после интраназальной трансплантации мезенхимальных

стволовых клеток у пациентов наблюдались проходящая отечность лица, особенно выраженная в области носа, периорбитальной области и чувство сухости носоглотки.

Безусловно, для нас как для врачей-исследователей главным является вопрос: как можно попытаться объяснить полученные результаты? На сегодняшний день на экспериментальных моделях грызунов показано, что при интраназальном пути введения мезенхимальные стволовые клетки мигрируют в головной мозг уже в первые сутки после введения и присутствуют в очаге поражения до трех недель и более [7]. Сложно представить наличие прямого заместительного эффекта стволовых клеток в ранние сроки после трансплантации, при котором они дифференцируются в зрелые нейроны, встраиваются в нейрональную сеть и начинают продуцировать дофамин. В исследованиях показан выраженный трофический эффект стволовых клеток. Продуцируя нейротрофические факторы, мезенхимальные стволовые клетки поддерживают структурную организацию как отдельных клеток головного мозга, так и нейрональной сети в целом способствуют повышению выживаемости нейронов и олигодендроцитов в условиях нейродеструкции. Кроме того, оказывая иммунорегуляторное воздействие как на местном, так и на системном уровне, можно предположить уменьшение воспалительного ответа со стороны микроглиальных клеток и тем самым восстановление функциональной активности нейронов в очаге нейродеструкции и нейровоспаления.

В исследованиях с использованием внутривенной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на экспериментальных моделях грызунов также был показан их значимый терапевтический эффект, повышающийся с увеличением дозы. Установлено, что терапевтический потенциал мезенхимальных стволовых клеток при внутривенном введении также заключается в эффектах иммуномодуляции и нейропротекции, а самые последние исследования зафиксировали возможность мезенхимальных стволовых клеток увеличивать способность к аутофагии других клеток, в том числе иммунокомпетентных.

На данном этапе проведения исследования, учитывая короткий послеоперационный катамнез, мы не можем исключить влияние возможного эффекта плацебо, который наиболее часто имеет место на ранних этапах открытых исследований. Оценка пациентов по унифицированным шкалам и длительный период посттрансплантационного наблюдения поможет разрешить этот вопрос.

Несомненно, полученные данные имеют только предварительный характер и нуждаются в более детальном и продолжительном изучении. В дальнейшем планируется дополнительный набор практического и теоретического материала, проведение большего числа трансплантаций мезенхимальных стволовых клеток. В связи с тем, что время жизни мезенхимальных стволовых клеток в организме ограничено несколькими неделями, актуально изучение отдаленных результатов их использования при болезни Паркинсона, эффективности повторных (курсовых) реинфузий и временных интервалов, через которые они должны проводиться.

Заключение. Лечение пациентов с болезнью Паркинсона с использованием трансплантации мезенхимальных стволовых клеток — перспективный метод воздействия на многие звенья патогенеза болезни Паркинсона, способный модифицировать течение заболевания и обеспечить контроль над проявлением моторных симптомов болезни. Проведение клеточной терапии может осуществляться различными методами введения мезенхимальных стволовых клеток. В то же время применение этого метода лечения при болезни Паркинсона — сложный и пока малоизученный процесс как на этапе отбора подходящих кандидатов, проведения процедуры трансплантации, так и в процессе динамического наблюдения пациентов.

Литература

1. Connolly, B. S. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. / B. S. Connolly, A. E. Lang // JAMA. — 2014 — Vol. 311. — P. 1670–1683.
2. Бойко, А. В. Терапия, изменяющая течение болезни Паркинсона / А. В. Бойко // Медицинские новости. — 2019. — № 1. — С. 42–45.
3. Yan Shen. A Compendium of Preparation and Application of Stem Cells in Parkinson's Disease: Current Status and Future Prospects. / Yan Shen [et al.] // Front Aging Neurosci. — 2016. — № 8. — P. 117.
4. Imran Ullah. Human mesenchymal stem cells — current trends and future prospective / Imran Ullah, Raghavendra Varegundi Subbarao, Gyu Jin Rho // Biosci Rep. — 2015. — Vol. 35(2). — P. 00191.
5. Алейникова, Н. Е. Получение токсической хронической модели синдрома паркинсонизма у крыс / Н. Е. Алейникова [и др.] // Вестник ВГМУ. — 2018. — № 17(6). — С. 92–99.

6. Стукач, Ю. П. Технология доставки мезенхимальных стволовых клеток к различным отделам головного мозга в передней или задней черепных ямках / Ю. П. Стукач [и др.] // Медэлектроника — 2016. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии: сб. науч. ст. IX Международная научно-техническая конференция. — Минск 8–9 дек. 2016 г. / Белорус. гос. ун-т информатики и радиоэлектроники; редкол. : Л. М. Лыньков (гл. ред.) [и др.]. — Минск, 2016. — С. 21–124.

Assessment of cell therapy effectiveness in patients with parkinson's disease using different cell transplantation routes

Ponomarev V. V.¹, Boyko A. V.¹, Zafranskaya M. M.¹, Nizhegorodova D. B.¹, Aleynikova N. E.¹, Chyzhyk V. A.¹, Shmarlovskiy R. P.², Baranovskiy A. E.², Zhukovskaya S. S.²

¹State Educational Institution "The Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education", Minsk, Republic of Belarus;

²Health Care Institution "5th Municipal Clinical Hospital", Minsk, Republic of Belarus

Treatment of patients with Parkinson disease using mesenchymal stem cells is a perspective method to influence on the pathogenesis of the disease. At the same time, this is a complex and still insufficiently explored process. Autologous mesenchymal stem cells were transplanted to eight patients with Parkinson's disease. The immediate results of the effectiveness of the combined and intravenous routes of mesenchymal stem cells administration on the motor symptoms in these patients were evaluated.

Keywords: Parkinson disease, mesenchymal stem cells, intranasal transplantation, intravenous transplantation, combined transplantation