

А. С. Федулов¹, А. В. Борисов¹, М. М. Зафранская², С. И. Кривенко³,
Ю. В. Московских¹, Д. Б. Нижегородова²

КО-ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ И ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»²,
ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии
и гематологии»³

В статье приведены результаты использования ко-трансплантации аутологичных мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с рассеянным склерозом. Рассмотрена безопасность высокодозной полихимиотерапии с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток. Изложены результаты исследования влияния инфузии мезенхимальных стволовых клеток на сроки восстановления различных ростков гемопоэза. Изучена эффективность применения совместной трансплантации аутологичных гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток при рассеянном склерозе. Произведена оценка динамики выраженности инвалидизации и показателей магнитно-резонансной томографии у пациентов с рассеянным склерозом после ко-трансплантации аутологичных мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток. Проведен сравнительный анализ использования различных видов трансплантации аутологичных стволовых клеток.

Ключевые слова: рассеянный склероз, гемопоэтические и мезенхимальные стволовые клетки, ко-трансплантация, восстановление гемопоэза, высокодозная полихимиотерапия, шкала EDSS.

**A. S. Fedulov, A. V. Borisov, M. M. Zafranskaja,
S. I. Krivenko, Y. V. Moskovskih, D. B. Nizhegorodova**

CO-TRANSPLANTATION OF AUTOLOGICAL MESENCHIMAL AND HEMOPOETIC STEM CELLS IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

The article presents the results of the use of co-transplantation of autologous mesenchymal and hematopoietic stem cells in patients with multiple sclerosis. The safety of high-dose polychemotherapy with subsequent transplantation of autologous hematopoietic and mesenchymal stem cells was considered. The results of the study of the effect of infusion of mesenchymal stem cells on the timing of recovery of various sprouts of hemopoiesis are presented. The efficiency of joint transplantation of autologous hematopoietic and mesenchymal stem cells in multiple sclerosis was studied. The assessment of the dynamics of the severity of disability and magnetic resonance imaging in patients with multiple sclerosis after co-transplantation of autologous mesenchymal and hematopoietic stem cells / autologous transplantation of mesenchymal stem cells was made. A comparative analysis of the use of various types of autologous stem cell transplantation has been carried out.

Key words: multiple sclerosis, hematopoietic and mesenchymal stem cells, co-transplantation, recovery of hemopoiesis, high-dose polychemotherapy, EDSS.

Рассеянный склероз (РС) – мультифакториальное хроническое прогрессирующее воспалительно-дегенеративное заболевание центральной нервной системы (ЦНС) с выраженным воспалительным, миелин- и аксон-дегенеративным компонентами и вовлечением клеток иммунной системы в развитие патологического процесса, возникающее у пациентов с генетической предрасположенностью [1]. РС рассматривается как ауто-

иммунный процесс, характеризующийся нарушением баланса между регуляторными и потенциально миелин-реактивными клонами Т-лимфоцитов с последующим развитием специфического Т-клеточного иммунного ответа, эффекторные реакции которого направлены на повреждение компонентов миелиновой оболочки аксонов [2].

Сущность высокодозной полихимиотерапии с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических

стволовых клеток (ВПХТ + АуТГСК) заключается в эрадикации пула аутореактивных иммунных клеток посредством интенсивной иммуносупрессии с последующей полной иммунной реконституцией за счет реинфузии гемопоэтических стволовых клеток (ГСК).

Одним из наиболее перспективных направлений клеточной терапии является совместная трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (МСК) с ГСК [3, 4]. Для полноценного функционирования гемопоэтическим клеткам необходимо специфичное микроокружение («ниша»), в том числе контакт со стромальными элементами костного мозга [3], а также синтезируемые ими факторы роста, хемокины и другие биологически активные молекулы. Инфузия аутологичных МСК, полученных из костномозговой взвеси, способна ускорить процесс приживления трансплантата ГСК и соответственно процесс восстановления гемопоэза [4]. Таким образом, представляет интерес изучение ко-трансплантации аутологичных гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток (АуТГСК + АуТМСК) при РС.

Цель исследования – изучить эффективность применения ВПХТ с последующей совместной трансплантацией аутологичных гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток у пациентов с РС.

Материал и методы

Для оценки эффективности ко-трансплантации аутологичных мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток пациентам с РС были сформированы 2 группы – основная и контрольная. Ко-трансплантация аутологичных МСК и ГСК была выполнена 11 пациентам, АуТМСК – 13 больным. В контрольную группу (КГ) вошли 20 пациентов с РС, получавших симптоматическую терапию. Из числа больных РС, которым осуществлялась трансплантация, 14 (58,3 %) мужчин, 10 (41,7 %) – женщин. Исследуемые группы были сопоставимы по клинико-демографическим характеристикам (табл. 1 и 2).

Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика пациентов с рассеянным склерозом, которым была выполнена АуТМСК /АуТМСК + АуТГСК (n = 24) и КГ (n = 20)

Параметр	Основная группа	Контрольная группа
Количество пациентов	24	20
Пол, м/ж	14/10	11/9
Возраст, лет	35,1 + 3,1*	35,1+3,8*
Клиническая форма РС (n/%):		
рецидивно-ремиттирующая	2/8,3 %	2/10,0 %
вторично-прогредиентная	22/91,7 %	18/90,0 %
Длительность заболевания, лет	7,3 + 2,0*	6,3+2,0*
EDSS на этапе скрининга, баллы	3,25 (2,5÷4,0)**	3,0 (2,5÷3,75) **
Количество обострений за 1 год до АуТГСК	3 [0;3]**	3 [0;3]**

Примечание: * – m + so; ** – Me (межквартильный интервал).

Таблица 2. Клинико-демографическая характеристика пациентов с рассеянным склерозом, которым была выполнена АуТМСК (n = 13) и АуТМСК+АуТГСК (n = 11)

Параметр	АуТМСК	АуТМСК + АуТГСК
Количество пациентов	13	11
Пол, м/ж	8/5	6/5
Возраст, лет	35,6 + 5,3*	34,5 + 4,0*
Клиническая форма РС (n/%):		
рецидивно-ремиттирующая	2 (15,4 %)	-
вторично-прогредиентная	11 (84,6 %)	11 (100,0 %)
EDSS на этапе скрининга, баллы	3,0 (2,5÷4,5)	3,5 (2,5÷4,0)
Количество обострений за 1 год до АуТГСК	3 [0;3]**	3 [0;3]**

Общее число МСК, трансплантированных пациентам при АуТМСК+АуТГСК, составило от $1,5 \times 10^9$ до $34,7 \times 10^9$ клеток (медиана – $9,95 \times 10^9$ МСК).

С целью изучения влияния ко-трансплантата МСК на сроки восстановления показателей гемопоэза после АуТГСК, проводилась оценка уровня лейкоцитов и тромбоцитов у пациентов вышеуказанной группы и больных РС, которым выполнялась АуТГСК без инфузии МСК. Клинико-демографическая характеристика пациентов, проходивших ВПХТ с последующей трансплантацией аутологичных ГСК, представлена в табл. 3.

Таблица 3. Клинико-демографическая характеристика пациентов с рассеянным склерозом, которым была выполнена АуТГСК (n = 21)

Параметр	Режим предтрансплантационного кондиционирования	
	ЦФ + АТГ + МП	ВЕАМ
Количество пациентов	10	11
Пол, м/ж	7/3	5/6
Возраст, лет	36,4 (26,4÷41,3)	28,4 (24,1÷39,8)
Клиническая форма РС (n/ %):		
вторично-прогрессирующая	7/70 %	6/54,5 %
первично-прогрессирующая	2/20 %	-
рецидивно-ремиттирующая	1/10 %	3/27,3 %
прогредиентно-ремиттирующая	-	2/18,2 %
EDSS за 2 года до ВПХТ+АуТГСК, баллы	4,0 (3,5÷4,5)	3,5 (2,0÷4,0)
EDSS за 1 год до ВПХТ+АуТГСК, баллы	5,25 (5,0÷5,5)	4,5 (2,5÷5,0)
EDSS на этапе скрининга, баллы	6,50 (6,0÷6,5)	5,50 (3,5÷6,5)

Пациентам, которым выполнялась совместная трансплантация ГСК и МСК, предтрансплантационное кондиционирование проводилось в режиме ВЕАМ (BCNU, этопозид, цитарабин, мелфалан). Среди больных, прошедших ВПХТ + АуТГСК, использовались 2 режима полихимиотерапии: циклофосамид + антитимоцитарный глобулин + метилпреднизолон (ЦФ + АТГ + МП) (n = 10) и ВЕАМ (n = 11). Для сравнения эффективности АуТГСК и АуТГСК + АуТМСК выполнен анализ клинико-неврологических данных и ре-

зультатов МРТ у больных, проходивших ко-трансплантацию ($n = 11$) и 11 пациентов, получавших предтрансплантационное кондиционирование в режиме BEAM с последующей АуТГСК.

Для определения выраженности инвалидизации больных РС использовалась шкала EDSS с оценкой неврологического статуса по функциональным системам.

МРТ головного мозга проводилась на аппарате «Philips Intera» (Нидерланды) с индукцией магнитного поля – 1 Тс. Толщина срезов составляла 5 мм. Применялись стандартизованные последовательности МРТ. Для внутривенного усиления вводился парамагнетик Омнискан в дозе 20–40 мл (в зависимости от массы тела пациента).

Протокол мобилизации ГСК включал в себя назначение ЦФ в дозе 2500 мг/м² и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (300 мкг подкожно, 1 раз в день). Коллекцию (аферез) ГСК начинали при уровне CD34 + 20–40 × 10⁶/л в периферической крови и выполняли на сепараторе клеток крови (аппарат для сепарации ГСК Serax S100, Швейцария). Целью коллекции ГСК являлось получение необходимого для последующей трансплантации количества: мононуклеарных клеток – не менее 5 × 10⁸/кг; CD34⁺ клеток – не менее 2 × 10⁶/кг.

Для получения взвеси клеток (в объеме от 30 мл до 100 мл) пациентам с РС выполнялась костномозговая пункция гребня крыла подвздошной кости с обеих сторон. Культивирование МСК осуществлялось по стандартным протоколам [5]. Оценка состояния культур МСК в исследовании проводилась на универсальном инвертированном микроскопе («Micros», Австрия и «Nikon», Япония) с применением методов фазового контраста.

С целью определения нормальности распределения признаков использовался критерий Шапиро-Уилка, а также применялись непараметрические методы для нахождения достоверных различий между сравниваемыми группами: критерий Манна-Уитни (две независимые группы); критерий Уилкоксона (одна группа до и после лечения); точный критерий Фишера (для анализа таблиц сопряженности при небольшом количестве наблюдений).

Для оценки результатов исследования были рассчитаны следующие параметры доказательной медицины: относительный риск, абсолютное и относительное снижение риска.

Результаты и обсуждение

Токсикометрическая характеристика высокодозной полихимиотерапии в режиме BEAM у пациентов с рассеянным склерозом, которым проводилась ко-трансплантация аутологичных мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток

Осложнения, наблюдавшиеся при применении режима предтрансплантационного кондиционирования BEAM представлены в табл. 4.

Следовательно, при использовании ВПХТ наиболее частыми осложнениями, наблюдавшимися у всех пациентов, были: гематологическая токсичность, алоpecia и гастроинтестинальная токсичность. К другим осложнениям, которые имели место у больных РС, относились мукозит (54,5 %) и гипертермия (45,5 %).

Таблица 4. Осложнения на фоне применения ВПХТ у пациентов с РС, прошедших ко-трансплантацию аутологичных МСК и ГСК ($n = 11$)

Осложнения	Пациенты с РС, прошедшие ко-трансплантацию аутологичных МСК и ГСК
Гематологическая токсичность	11 (100 %)
Алоpecia	11 (100 %)
Гастроинтестинальная токсичность и гепатотоксичность	11 (100 %)
Мукозит	6 (54,5 %)
Гипертермия	5 (45,5 %)

В день 0 после завершения проведения ВПХТ у всех пациентов отмечались гематологическая и гастроинтестинальная токсичность (рис. 1).

На +7 день и +14 день наиболее распространенным вариантом осложнения была гематологическая токсич-

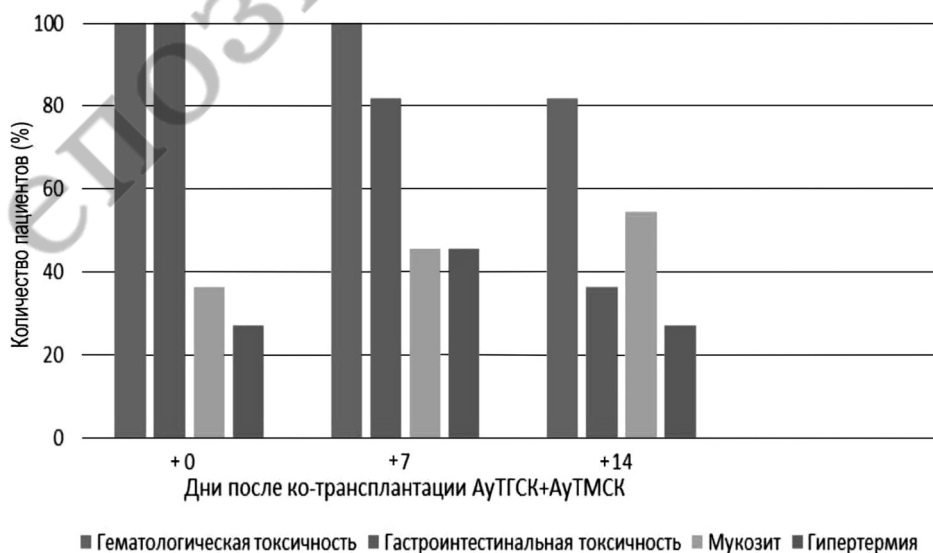


Рисунок 1. Частота осложнений на фоне применения ВПХТ в различные сроки после АуТГСК у пациентов с РС, прошедших ко-трансплантацию аутологичных МСК и ГСК ($n = 11$)

ность, наблюдавшаяся у 100 % и 81,8 % пациентов соответственно. Гастроинтестинальная токсичность чаще отмечалась в день 0 – 100 %, гипертермия – день +7 (45,5 %), мукозит – день +14.

Восстановление показателей гемопоэза у пациентов с рассеянным склерозом после ко-трансплантации аутологичных мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток

Среди всех пациентов, которым проводилась ко-трансплантация аутологичных мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток (n = 10) отмечалось восстановление показателей кроветворения после реинфузии, равно как и последующее адекватное функционирование трансплантатов. Для оценки влияния ко-трансплантата МСК на сроки восстановления показателей гемопоэза после АуТГСК выполнен сравнительный анализ продолжительности восстановления ростков кроветворения у пациентов, прошедших АуТГСК и АуТГСК + АуТМСК (табл. 5).

Таблица 5. Сроки восстановления кроветворения у пациентов с РС после АуТГСК (n = 21) и ко-трансплантации аутологичных МСК и ГСК (n = 10)

Показатель	Скорость восстановления, сутки (M+m)		P
	АуТГСК	АуТГСК + АуТМСК	
Лейкоциты >0,5 × 10 ⁹ /л	12,4 ± 3,2	10,1 ± 1,7	0,321
Лейкоциты >1,0 × 10 ⁹ /л	14,3 ± 4,9	11,4 ± 2,1	0,041*
Нейтрофилы >0,5 × 10 ⁹ /л	13,8 ± 3,2	11,4 ± 2,0	0,032*
Тромбоциты >20 × 10 ⁹ /л	14,7 ± 4,3	10,3 ± 2,9	0,002*

Примечание: * – выделены значения при достоверных различиях (p < 0,05).

Представленные данные свидетельствуют о наличии статистически достоверных различий в скорости восстановления показателей периферической крови, которые указывают на сокращение сроков данного процесса при дополнительном использовании трансплантата МСК (p < 0,05). В первую очередь это касалось восстановления уровня тромбоцитов до 20 × 10⁹/л. Статистически значимы были также различия в скорости отстройки уровня лейкоцитов до 1,0 × 10⁹/л и нейтрофилов до 0,5 × 10⁹/л. Этот факт нельзя связать с количеством трансплантированных ГСК, так как наблюдалась лишь слабая корреляция (r = -0,521) между числом трансплантированных клеток (ядросодержащих клеток (ЯСК), мононуклеаров и CD 34+) и сроками восстановления гемопоэза (табл. 6).

Таблица 6. Корреляция числа трансплантированных ГСК со скоростью восстановления показателей кроветворения

Показатель	Коэффициент корреляции, r		
	ЯСК (×10 ⁹ /кг)	Мононуклеары (×10 ⁹ /кг)	CD 34+ (×10 ⁶ /кг)
Лейкоциты > 0,5 × 10 ⁹ /л	-0,478	-0,343	-0,400
Лейкоциты > 1,0 × 10 ⁹ /л	-0,521	-0,127	-0,453
Нейтрофилы > 0,5 × 10 ⁹ /л	-0,384	-0,028	-0,371
Тромбоциты > 20 × 10 ⁹ /л	-0,188	-0,041	-0,185
Тромбоциты > 50 × 10 ⁹ /л	-0,116	-0,110	-0,160

Таким образом, ко-трансплантация МСК с ГСК положительно влияет на регенерацию гемопоэза у пациентов с РС. Трансплантация аутологичных МСК стимулирует восстановление показателей периферической крови после ВПХТ + АуТГСК и сокращает сроки отстройки параметров гемограммы.

Динамика выраженности инвалидизации и показателей магнитно-резонансной томографии у пациентов с рассеянным склерозом после ко-трансплантации аутологичных мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток/аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток.

Изучение неврологического статуса пациентов с РС показало, что через 3 года после проведения трансплантации у больных РС, которым была выполнена АуТМСК, не отмечалось статистически значимого нарастания выраженности инвалидизации за 3-х летний период мониторинга (табл. 7). Среди пациентов, проходивших ВПХТ с последующей АуТГСК+АуТМСК, имело место статистически достоверное снижение уровня инвалидизации через 6 месяцев и 1 год наблюдения (соответственно, p = 0,043 и p = 0,018), после чего отмечалась стабилизация неврологического дефицита. В КГ на протяжении всего периода мониторинга отмечалось нарастание количества баллов по шкале EDSS (p < 0,05).

Таблица 7. Динамика выраженности инвалидизации по шкале EDSS у пациентов с РС после АуТМСК/АуТМСК + АуТГСК за 3-х летний период наблюдения

Этап	АуТМСК (n = 13)	АуТМСК + АуТГСК (n = 11)	КГ (n = 11)
Скрининг	3,0 (2,5÷4,5)	3,5 (2,5÷4,0)	3,0 (2,5÷3,75)
Через 6 мес.	3,0 (2,5÷4,0)	3,0 (2,5÷3,0)	3,0 (2,5÷4,5)
Через 1 год	3,5 (2,5÷4,0)	3,0 (2,5÷3,0)	3,5 (3,0÷4,75)
Через 3 года	3,5 (3,0÷4,5)	3,0 (2,5÷3,0)	4,5 (3,75÷5,5)

Примечание: Me (25÷75 процентиль).

Анализ результатов оценки неврологического статуса показал, что через 6 месяцев после трансплантации ВПХТ с последующей АуТГСК + АуТМСК отмечалась статистически достоверно лучшая динамика в отношении выраженности инвалидизации по сравнению с больными, которым проводилась АуТМСК (Fisher exact p = 0,0481, one-tailed) (табл. 8).

Таблица 8. Динамика выраженности инвалидизации по шкале EDSS у пациентов с РС, которым проводилась АуТМСК/АуТМСК + АуТГСК через 6 месяцев после трансплантации

Группы	Баллы по шкале EDSS	
	уменьшение	отсутствие изменений
АуТМСК (n = 13)	1 (7,7 %)	12 (92,3 %)
АуТМСК+АуТГСК (n = 11)	5 (45,5 %)	6 (54,5 %)

Через 3 года (46÷48 мес.) после трансплантации среднее количество баллов по шкале EDSS у обеих исследуемых групп (АуТМСК и АуТГСК+АуТМСК) существенно не отличалось (Fisher exact p = 0,0551, one-tailed) (табл. 9).

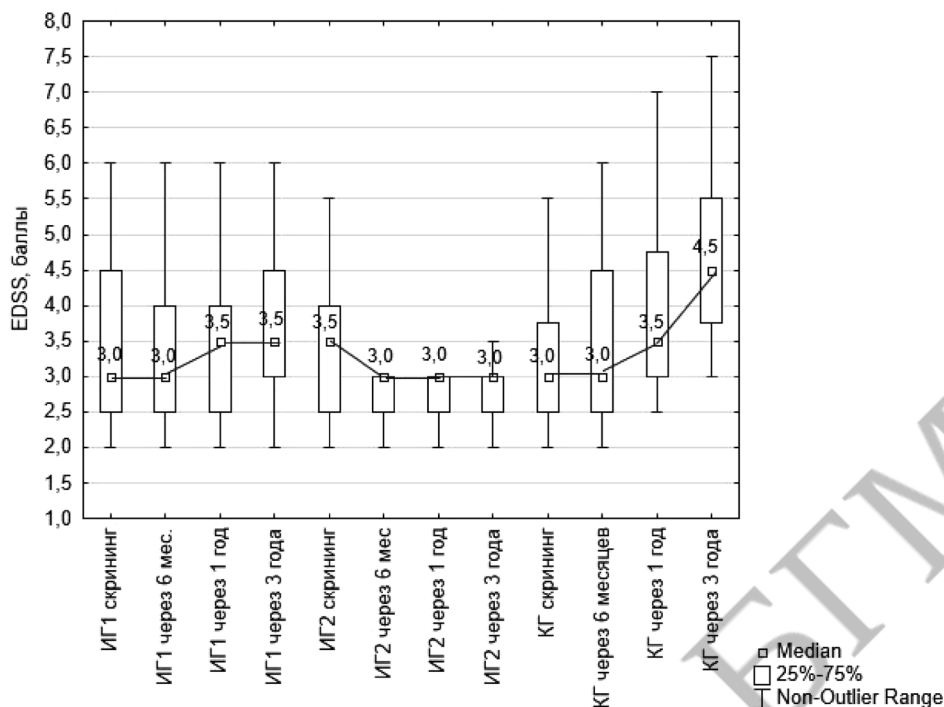


Рисунок 2. Динамика выраженности инвалидизации по EDSS у пациентов с РС: ИГ 1 (исследуемая группа 1) – пациенты, которым проводилась АуТМСК; ИГ 2 (исследуемая группа 2) – пациенты, которым проводилась АуТМСК + АуТГСК; КГ (контрольная группа) – пациенты с РС, которым проводилась терапия без использования трансплантации стволовых клеток

Вместе с тем выраженность инвалидизации у пациентов КГ была достоверно выше, чем среди больных, которым проводилась аутологичная трансплантация стволовых клеток ($p < 0,05$) (рис. 2).

Таблица 10. Динамика количества очагов, накапливающих гадолиний у пациентов с РС, которым проводилась АуТМСК/АуТМСК + АуТГСК через 3 года после трансплантации

Таблица 9. Динамика выраженности инвалидизации по EDSS у пациентов с РС, которым проводилась АуТМСК/АуТМСК + АуТГСК через 3 года после трансплантации

Группы	Баллы по шкале EDSS	
	уменьшение	отсутствие изменений
АуТМСК/ АуТМСК+АуТГСК (n = 24)	21 (87,5 %)	3 (12,5 %)
КГ (n = 20)	1 (5,0 %)	19 (95,0 %)

Группы	Активные очаги демиелинизации	
	имеются	отсутствуют
АуТМСК/ АуТМСК+АуТГСК (n = 24)	4 (16,7 %)	20 (83,3 %)
КГ (n = 20)	19 (95,0 %)	1 (5,0 %)

Расчет некоторых параметров доказательной медицины показал следующие результаты. Относительный риск увеличения неврологического дефицита на 0,5 баллов и более у пациентов после трансплантации составил 13,2 % (95 % ДИ 4,5–38,1 %). Относительное снижение риска увеличения неврологического дефицита на 0,5 балла и более после проведения АуТМСК или АуТМСК + АуТГСК по сравнению с использованием симптоматической терапии равно 86,8 %. Абсолютное снижение риска нарастания неврологического дефицита на 0,5 балла и более после проведения АуТМСК или АуТМСК + АуТГСК составило 82,5 % (95 % ДИ 56,3–91,6 %).

Изучение результатов МРТ головного мозга выявило, что у больных, которым проводилась трансплантация аутологичных стволовых клеток, через 3 года наблюдения число активных очагов демиелинизации было статистически достоверно меньше, чем у больных КГ (Fisher exact $p < 0,05$, one-tailed) (табл. 10).

Итак, у всех пациентов, которым выполнялась ко-трансплантация аутологичных ГСК и МСК наблюдались осложнения, обусловленные применением режима предтрансплантационного кондиционирования. Наиболее частыми из них были: гематологическая токсичность, алоpecia и гастроинтестинальная токсичность (100 % пациентов). Вместе с тем, случаев летального исхода и тяжелых побочных явлений, которые служили поводом для отмены трансплантации при проведении ВПХТ в режиме BEAM-CSA отмечено не было. В исследовании N. Hamerschlak et al. [6], 21 больной РС проходил предтрансплантационное кондиционирование в режиме BEAM-ATG, 20 пациентов – ЦФ + АТГ. В группе BEAM + ATG отмечалась более высокая частота возникновения осложнений в ходе трансплантации, по сравнению с группой ЦФ + АТГ (40 %; $p = 0,04$). Кроме того, 3 пациента (14,3 %), проходившие предтрансплантационное кондиционирование по схеме BEAM+ATG умерли (причинами смерти были кардиотоксичность, сепсис и альвеолярное кровоизлияние). С учетом вышеуказанного предпочтительным является использование вместе с химиотерапевтическими препаратами, применяющимися по схеме BEAM, циклоспорина в дозе 50 мг/м², а не АТГ, что позволяет уменьшить токсичность ВПХТ.

Применение АуТМСК не сопровождалось осложнениями у пациентов с РС. В исследовании, проводившемся в Великобритании [7], после выполнения АуТМСК 10 пациентам с вторично-прогрессирующим РС у 1 (10,0 %) пациента наблюдались проходящие кожные высыпания, 2 (20,0 %) больных имели бактериальные инфекции через 3–4 недели после трансплантации, проявления которых регрессировали в течение 5–7 дней. После АуТМСК, которая выполнялась 9 больным с рецидивно-ремиттирующим РС [8], у 1 (11,1 %) пациента наблюдалась острая респираторная вирусная инфекция, у 1 (11,1 %) – грипп и у 1 (11,1 %) – гастроэнтерит. Причем частота побочных явлений в основной и контрольной группе (в качестве плацебо использовалась суспензионная среда) не отличалась. Все эти данные свидетельствуют о хорошей переносимости АуТМСК у пациентов с РС.

На основании результатов исследования восстановления показателей гемопоэза у пациентов с РС после АуТГСК + АуТМСК можно сделать вывод о том, что совместная с ГСК трансплантация аутологичных МСК, сокращает сроки посттрансплантационного восстановления гемопоэза по сравнению с АуТГСК. Данный факт тем более важен в свете того, что длительность панцитопении после ВПХТ + АуТГСК во многом определяет успех пересадки кроветворных клеток. Так как, чем короче этот период, тем меньше вероятность возникновения инфекционных и других осложнений. Кроме того, сокращение сроков восстановления гемопоэза позволяет сократить продолжительность пребывания пациента в стационаре, что имеет существенный экономический эффект с учетом стоимости койко-дня в отделении трансплантации костного мозга.

Согласно результатам ASTIMS (Autologous Haematopoietic Stem Cell Transplantation trial in MS), которое в настоящее время представляет собой единственное зарегистрированное рандомизированное контролируемое исследование эффективности АуТГСК при РС, среди больных, прошедших ВПХТ+АуТГСК, 68 %-70 % пациентов отвечали критериям NEDA-4 (No Evidence of Disease Activity (нет данных за активность заболевания)) через 4–5 лет после трансплантации. В то же время, при использовании современных препаратов, изменяющих течение РС, только 32–39 % пациентов соответствовали данным критериям через 2 года наблюдения [9]. Кроме того, при применении данной лечебной технологии отмечалось снижение образования новых очагов демиелинизации в Т2-взвешенном режиме на 79 % и уменьшение частоты рецидивов на 64 % по сравнению с митоксантроном [10, 11]. Результаты наших исследований также указывают на положительный эффект применения ВПХТ + АуТГСК. Так, среди пациентов, которым на базе ГУ МНПЦ ХТИГ была выполнена трансплантация, за 3-х летний период наблюдения значимых изменений в отношении выраженности инвалидизации по шкале EDSS не отмечалось ($p = 0,19326$). Имела место некоторая положительная динамика неврологического статуса. В то же время среди больных РС, получавших симптоматическую терапию, отмечалась отрицательная динамика данного параметра [12].

Результаты применения трансплантации аутологичных стволовых клеток при РС указывают на то, что как

АуТГСК + АуТМСК, так и АуТМСК являются эффективными технологиями терапии данного заболевания, о чем свидетельствует анализ выраженности инвалидизации по EDSS и MPT головного мозга с введением парамагнетика. Это подтверждается также результатами расчета относительного и абсолютного снижения риска увеличения неврологического дефицита после трансплантации. Причем ко-трансплантация обладает большей эффективностью по сравнению с АуТМСК в течении 1 года наблюдения после трансплантации ($p < 0,05$). Этот факт может быть обусловлен тем обстоятельством, что ВПХТ с последующей АуТГСК сопровождается качественными иммунологическими изменениями [13–17], позволяющими предположить наличие функциональной переустановки иммунной системы, которая становится толерантной к аутоантигенам на протяжении определенного периода времени. В то время как влияние МСК на аутоиммунный процесс менее выраженное.

Изучение отдаленных результатов трансплантации, показывает, что через 3 года наблюдения эффективность применения обеих технологий существенно не отличалась. Этот факт, вероятно, объясняется нарастанием процессов нейродегенерации при РС. Исходя из изложенного выше, применение АуТГСК может быть рекомендовано пациентам со злокачественным течением РС, сопровождающимся быстрым нарастанием инвалидизации. Использование АуТМСК с учетом эффективности и профиля безопасности технологии, целесообразно у пациентов с более доброкачественным течением заболевания, легким неврологическим дефицитом.

Необходимо отметить, что есть исследования, результаты которых указывают на то, что эффект клеточной терапии с использованием МСК увеличивается при их повторной инфузии [18, 19]. Так, через 9 мес. после однократной АуТМСК выраженность инвалидизации по шкале EDSS существенно не изменялась (Wilcoxon = 0,37, $p = 0,71$), в то время как после реинфузии МСК имело место снижение количества баллов по данной шкале (Wilcoxon = 2,02, $p = 0,04$). Среди пациентов, которым выполнялась однократная реинфузия МСК, статистически значимых изменений толщины слоя нервных волокон сетчатки по данным оптической когерентной томографии не отмечалось (Wilcoxon = 1,21, $p = 0,23$). В группе пациентов, прошедших повторную АуТМСК наблюдалось достоверное увеличение данного показателя (Wilcoxon = 2,37, $p = 0,017$).

Выводы

1. Реинфузия мезенхимальных стволовых клеток оказывает положительный эффект на восстановление всех ростков кроветворения: лимфоцитарного, миелоцитарного и промегакариоцитарного.

2. Трансплантация аутологичных стволовых клеток (АуТГСК, АуТМСК и АуТМСК+АуТГСК) является эффективным методом терапии РС. Применение ВПХТ с последующей АуТГСК позволяет обеспечить функциональную переустановку иммунной системы. Эффект АуТМСК основан на использовании иммуномодулирующих и нейротрофических свойств этих клеток.

3. АуТМСК обладают лучшим профилем безопасности по сравнению с АуТГСК+АуТМСК.

4. В отдаленный период наблюдения, составляющий 3 года, результаты влияния АуТМСК и АуТМСК + АуТГСК на клинические и инструментальные показатели существенно не отличаются.

Литература

1. *Freedman, M. S., Selchen D., Prat A., Giacomini P. S. Managing Multiple Sclerosis: Treatment Initiation, Modification, and Sequencing // Can J Neurol Sci. – 2018. 45: 489–503.*

2. *Зафранская, М. М. Мезенхимальные стволовые клетки: иммуномодулирующие свойства и обоснование их применения для клеточной иммунотерапии рассеянного склероза: дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.09 / М. М. Зафранская. – Минск, 2016. – 264 с.*

3. *Порядок проведения тандемной аллогенной трансплантации гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток у взрослых. Инструкция по применению: МЗ РБ № 003-0111 / А. Л. Усс [и др.]. – Минск, 2011. – 16 с.*

4. *Кривенко, С. И., Усс А. Л., Дедюля Н. И. Опыт и перспективы клинического применения мезенхимальных стволовых клеток // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – Прил. № 2. – С. 51–54.*

5. *Федулов, А. С., Зафранская М. М., Мотузова Я. М., Нижегородова Д. Б., Кривенко С. И., Борисов А. В., Юркевич М. Ю., Багатка С. С., Иванчик Г. И., Миланович Н. Ф., Качан Т. В., Свирид И. В., Балванович Д. И. Метод клеточной терапии рассеянного склероза // Инструкция по применению. Регистрационный № 147-1113, утверждена 20.12.2013 г. – С. 16.*

6. *Hamerschlag, N., Rodrigues M., Moraes D. A. et al. Brazilian experience with two conditioning regimens in patients with multiple sclerosis: BEAM/horse ATG and CY/rabbit ATG // Bone Marrow Transplant. – 2010. – Vol. 45. – P. 239–248.*

7. *Connick, P., Kolappan M., Patani R. The mesenchymal stem cells in multiple sclerosis (MSCIMS) trial protocol and baseline cohort characteristics: an open-label pre-test: post-test study with blinded outcome assessments // Trials. – 2011. – Vol. 12. – P. 62–72.*

8. *Dulamea, A. Mesenchymal stem cells in multiple sclerosis: translation to clinical trials // J Med Life. 2015 Jan-Mar; 8(1): 24–27.*

9. *Burman, J. et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation for neurological disease // J Neurol Neurosurg Psychiatry 2018;89:147–155. doi:10.1136/jnnp-2017-316271.*

10. *Mancardi, G. L., Sormani M. P., Gualandi F. et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: a phase II trial // Neurology 2015;84:981–8.*

11. *Martinelli Boneschi, F., Vacchi L., Rovaris M. et al. Mitoxantrone for multiple sclerosis. The Cochrane database of systematic reviews 2013;5:CD002127.*

12. *Федулов, А. С., Борисов А. В., Зафранская М. М., Марченко Л. Н., Кривенко С. И., Качан Т. В., Далидович А. А. Клеточная терапия рассеянного склероза. – Минск: Никтаграфик-сПлюс, 2018. – 251 с.*

13. *Lee, T. Stem cell therapy independent of stemness // World J. Stem. Cells. – 2012. – Vol. 26 (12). – P. 120–124.*

14. *Patani, R., Chandran S. Experimental and therapeutic opportunities for stem cells in multiple sclerosis // Int. J. Mol. Sci. – 2012. – Vol. 13 (11). – P. 14770–14791.*

15. *Lourbopoulos, A., Grigoriadis N. Multimodality in mesenchymal stem cell transplantation highlights the need for stem cell “ethology” // J. Neurol. Sci. – 2012. – Vol. 320 (1-2). – P. 166–167.*

16. *Laroni, A., Novi G., Kerlero de Rosbo N., Uccelli A. Towards clinical application of mesenchymal stem cells for treatment of neurological diseases of the central nervous system // J. Neuroimmune Pharmacol. – 2013. – Vol. 8 (5). – P. 1062–1076.*

17. *Freedman, M. S. et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cell transplantation as a treatment for multiple sclerosis: consensus report of the International MSCT Study Group. Mult Scler. 2010;16(4):503–510.*

18. *Федулов, А. С., Борисов А. В., Зафранская М. М., Марченко Л. Н., Качан Т. В., Кривенко С. И., Нижегородова Д. Б., Московских Ю. В., Авдей Л. Л., Дрик О. Н., Корневская И. Э. Применение аутологичной трансплантации мезенхимальных при рецидивно-ремиттирующей форме рассеянного склероза // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. – 2017. – № 2. – С. 297–307.*

19. *Федулов, А. С., Борисов А. В., Московских Ю. В., Зафранская М. М., Кривенко С. И. Отдаленные результаты аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток и ко-трансплантации мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток у больных рассеянным склерозом // Проблемы медицины в современных условиях. – Казань, 2014. – С. 210–213.*

Поступила 30.11.2018 г.