

А. В. Борисов, Л. Н. Марченко, Т. В. Качан

ПОИСК БИОМЕТРИЧЕСКОГО МАРКЕРА ВОЗДЕЙСТВИЯ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ГАНГЛИОНАРНЫЕ КЛЕТКИ СЕТЧАТКИ У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Цель: оценить влияние аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (АуТМСК) на показатели оптической когерентной томографии у пациентов с рецидивно-ремитирующим рассеянным склерозом (ППРС).

Материал и методы. В основную группу включено 50 глаз 25 пациентов с ППРС, которым проводилась АуТМСК. Группу сравнения составили 68 глаз 34 пациентов с ППРС, не получавших препаратов, модифицирующих течение заболевания. Применялась диагностическая система Stratus OCT 3000 (Carl Zeiss Meditec). Толщину слоя нервных волокон сетчатки (СНВС) определяли по протоколу исследования диска зрительного нерва Fast RNFL Thickness, целостность ГКС в центральной зоне – по протоколу исследования макулярной зоны Fast Macula, показателю полного макулярного объема (ПМО).

Результаты. Через 6 и 12 месяцев количество глаз, в которых средняя толщина СНВС увеличилась по сравнению с таковой до АуТМСК, в основной группе было значительно больше при сопоставлении с группой сравнения. Через 2 года после АуТМСК эта разница нивелировалась, а через 3 года показатель толщины СНВС вновь значительно отличался в исследуемых группах. Это позволяет предположить нейропротекторное воздействие АуТМСК на аксоны ГКС у пациентов с РС.

Выводы: показатель толщины перипапиллярного СНВС может быть рекомендован как биомаркер терапевтического воздействия АуТМСК на каждого отдельного пациента.

Ключевые слова: демиелинизирующая оптиконеуропатия, рассеянный склероз, оптическая когерентная томография, аутологичная трансплантация мезенхимальных стволовых клеток.

A. V. Barysau, L. N. Marchanka, T. V. Kachan

SEARCH FOR A BIOMETRIC MARKER OF THE EFFECT OF AUTOLOGOUS TRANSPLANTATION OF MESENCHYMAL STROMAL STEM CELLS ON RETINAL GANGLION CELLS IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

Purpose: to assess the effect of autologous mesenchymal stem cell transplantation (AuMSCT) on optical coherence tomography indicators in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS).

Material and methods. The main group included 50 eyes of 25 patients with RRMS who underwent AuMSCT. The comparison group consisted of 68 eyes of 34 patients with RRMS who did not receive drugs that modify the course of the disease. For OCT, the diagnostic system Stratus OCT 3000 (Carl Zeiss Meditec) was used. To determine the thickness of the retinal nerve fiber layer (RNFL), the protocol for examining the optic nerve head Fast RNFL Thickness was used, to determine the integrity of the retinal ganglion cells (RGC) in the central zone, the protocol for examining the macular zone Fast Macula, an indicator of total macular volume (TMV) was used.

Results. After 6 and 12 months, the number of eyes in which the average thickness of RNFL increased compared to that before AuMSCT in the main group was significantly higher when compared with the comparison group. 2 years after AuMSCT, this difference leveled off. After 3 years, the RNFL thickness indicator again significantly differed in the studied groups. This suggests a neuroprotective effect of AuMSCT on RGC axons in patients with MS. There were no statistically significant differences between the groups in the number of eyes with a change in TMV after 6 months, 1, 2 and 3 years.

Conclusion: the index of the thickness of the peripapillary RNFL can be recommended as a biological marker of the therapeutic effect of AuMSCT at the level of an individual patient.

Key words: Demyelinating optic neuropathy, multiple sclerosis, optical coherence tomography, autologous mesenchymal stem cell transplantation.

Клиника поражения зрительного анализатора при рассеянном склерозе может проявляться как острым аутоиммунным воспалительным поражением ретробульбарной части зрительного нерва (ретробульбарный неврит, РБН) с развитием невритической оптиконеуропатии (ОНП), так и хронической прогрессирующей дегенеративной ОНП [3, 4]. РБН в дебюте заболевания встречается приблизительно у трети пациентов с РС, либо развивается некоторое время спустя после его начала [5,6]. Дегенеративная ОНП диагностируется в различные сроки от дебюта заболевания и до определенной его стадии носит субклинический характер. В ряде исследований продемонстрировано наличие аксональной дегенерации уже в начальном периоде РС [5,6]. При этом доказано, что зрительные функции снижаются только после того, как потеря слоя нервных волокон сетчатки (СНВС) достигает определенного порога, а именно, 70 мкм [2]. Аксоны ганглионарных клеток сетчатки (ГКС) являются единственными немиелинизированными аксонами в центральной нервной системе. Это делает их идеальной моделью для изучения как аксональной, так и нейрональной дегенерации ГКС [8]. Выявлена корреляция толщины СНВС и комплекса ГКС (в качестве параметров нейро-аксонального повреждения) как с объемом всего мозга, так и с атрофией его белого и серого вещества [8]. Установлено, что при РБН это соотношение нарушается, ослабляя корреляцию за счет дополнительного повреждения аксонов ГКС зрительного нерва [8]. Оптическая когерентная томография (ОКТ) продемонстрировала высокую чувствительность и специфичность как в диагностике ОНП у пациентов с РС, так и в оценке эффективности терапии, изменяющей клиническое течение заболевания (ТИРС). Модифицируют течение заболевания такие препараты, как IFN β -1a и IFN β -1b, глатирамера ацетат, и др. Несмотря на доказанное в рандомизированных клинических исследованиях и в реальной клинической практике положительное влияние препаратов, изменяющих течение РС (ПИТРС),

они по-прежнему имеют ограниченную эффективность с сохранением достаточно высокой частоты побочных эффектов [7]. Исходя из патогенетических механизмов развития РС, стратегия клеточной терапии с использованием мезенхимальных стромальных стволовых клеток (МСК) представляется приближенной к «идеальному» воздействию, поскольку способна влиять как на аутоиммунно-воспалительный и нейродегенеративный компоненты, так и на запуск процессов ремиелинизации [1, 7]. В этой связи одной из важнейших задач в оценке торможения нейродегенерации у пациентов с РС после аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (АуТМСК) является дальнейший поиск ее релевантных критериев.

Целью исследования явилась оценка влияния аутологичной трансплантации мезенхимальных стромальных стволовых клеток на показатели оптической когерентной томографии у пациентов с рецидивно-ремитирующим рассеянным склерозом.

Материал и методы. В исследование включено 59 пациентов с рецидивно-ремитирующей формой рассеянного склероза (РРРС). Дизайн исследования: одноцентровое, контролируемое, сравнительное, проспективное.

В основную группу вошли 50 глаз 25 пациентов (10 мужчин, 15 женщин) в возрасте 32,0 (25,0–35,0), Me (25–75 %), с РРРС, которым в период с 2011г по 2016 г. на базе ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» была проведена клеточная терапия заболевания по протоколу АуТМСК. Из них в 72 % случаев (36 глаз, 18 пациентов) производилась однократная процедура трансплантации, а в 28 % случаев (14 глаз, 7 человек) АуТМСК выполнялась повторно. Толщина СНВС оценивалась до АуТМСК, затем каждые 6 месяцев. Три пациента (6 глаз, 12 %) наблюдались 6 месяцев; у 4 пациентов (8 глаз, 16 %) срок наблюдения составил 1 год; у 3 пациентов (6 глаз, 12 %) – 1,5 года; у 3 пациентов (6 глаз, 12 %) – 2 года; у 1 пациента (2 глаза, 4 %) – 2,5 года; 4 пациента (8 глаз, 16 %) наблюдались 3 года:

3 пациента (6 глаз, 12 %) – 3,5 года и 4 пациента (8 глаз, 16 %) – 4 года.

Группу сравнения составили 68 глаз 34 пациентов (9 мужчин 25 женщин) с РРРС в возрасте 33,0 (25,0–39,0) лет, Me (25–75 %), не получавших ПИТРС и сопоставимых с основной группой по основным возрастным-половым и клиническим показателям.

ОКТ проводилась на диагностической системе Stratus OCT 3000 (Carl Zeiss Meditec). Для определения толщины СНВС использовался протокол исследования диска зрительного нерва Fast RNFL Thickness. Оценку целостности ГКС в центральной зоне проводили по протоколу исследования макулярной зоны Fast Macula.

При анализе исследуемых показателей основной группы и группы сравнения использовали критерии χ^2 и Фишера.

Результаты и обсуждение. Динамика распределения средней толщины слоя перипапиллярных нервных волокон (Avg.Thickness) по исследуемым группам представлена в табл. 1.

Как следует из табл. 1, через 6 месяцев количество глаз, в которых средняя толщина СНВС увеличилась по сравнению с таковой до АутМСК, в основной группе было значительно больше при сопоставлении с группой сравне-

ния. Также статистически значимой оказалась разница у пациентов группы сравнения и основной группы по показателю истончения перипапиллярного СНВС, их количество преобладало в группе сравнения.

Через год после АутМСК сохранялись значимые различия основной группы и группы сравнения по количеству глаз, толщина СНВС в которых увеличилась по сравнению с исходной (их количество преобладало в основной). Также значимой оставалась разница у пациентов основной группы и группы сравнения по количеству глаз с истончением СНВС (преобладало в группе сравнения). Полученные данные представлены в табл. 2.

Через 2 года после АутМСК определено нивелирование различий между основной группой и группой сравнения по количеству глаз с истончением и утолщением СНВС. Данные представлены в табл. 3.

Глаза с утолщением СНВС, его истончением и отсутствием динамики по сравнению со стартовыми данными не имели статистически значимых различий в обеих исследуемых группах.

Через 3 года после АутМСК наблюдали в основной группе увеличение количества глаз, в которых толщина СНВС была больше

Таблица 1. Показатели толщины СНВС через 6 месяцев после АутМСК

Средн. толщина СНВС	Группы, % (абс)		Статистическая значимость различий
	основная, n = 50	сравнения, n = 68	
С утолщением СНВС. Из них:	52,0 (26)	10,3 (7)	$\chi^2 = 24,9, p < 0,001$
+10 м и более	8,0 (4)	0,0 (0)	-
+ до 10 м	44,0 (22)	10,3 (7)	$\chi^2 = 17,7, p < 0,001$
без изменений	8,0 (4)	13,2 (9)	F = 0,0, p > 0,05
с истончением	40,0 (20)	76,5 (52)	$\chi^2 = 16,1, p < 0,001$

Таблица 2. Показатели толщины СНВС в исследуемых группах через 1 год после АутМСК

Средн толщина СНВС	Группы, (%) абс)		Статистическая значимость различий
	основная (n = 44)	сравнения (n = 62)	
С утолщением СНВС. Из них:	38,6 (17)	6,5 (4)	F = 0,2, p < 0,001
+10 м и более	11,4 (5)	0,0 (0)	-
+ до 10 м	27,3 (12)	6,5 (4)	F = 0,1, p < 0,01
без изменений	4,5 (2)	8,1 (5)	F = 0,0, p > 0,05
с истончением	56,8 (25)	85,5 (53)	$\chi^2 = 8,7, p < 0,01$

Таблица 3. Показатели толщины СНВС в исследуемых группах после АуТМСК через 2 года

Средн. толщина СНВС	Группы, (%) абс)		Статистическая значимость различий
	основная (n = 30)	сравнения (n = 48)	
С утолщением СНВС. Из них:	26,7 (8)	10,4 (5)	$\chi^2 = 3,5, p > 0,05$
+10 м и более	6,7 (2)	0,0 (0)	-
+ до 10 м	10,0 (3)	10,4 (5)	F = 0,0, p > 0,05
без изменений	3,3 (1)	4,2 (2)	F = 0,0, p > 0,05
с истончением	0,0 (24)	89,6 (43)	F = 0,0, p > 0,05

Таблица 4. Показатели толщины СНВС в исследуемых группах через 3 года после АуТМСК

Средн. толщина СНВС	Группы, (%) абс)		Статистическая значимость различий
	основная (n = 18)	сравнения (n = 36)	
С утолщением СНВС. Из них:	50,0 (9)	13,9 (5)	$\chi^2 = 8,2, p < 0,01$
+10 м и более	5,6 (1)	0,0 (0)	-
+ до 10 м	44,5 (8)	13,9 (5)	$\chi^2 = 6,1, p < 0,05$
без изменений	0,0 (0)	5,6 (2)	-
с истончением	50,0 (9)	80,6 (29)	$\chi^2 = 5,4, p < 0,05$

по сравнению с таковой до АуТМСК, этот показатель вышел на уровень статистически значимого при сопоставлении с группой сравнения. Соответственно в группе сравнения определена значимая разница в количестве глаз с истончением СНВС по отношению к исходному уровню в сопоставлении с основной группой. Данные представлены в табл. 4.

Таким образом, анализ результатов мониторинга перипапиллярного СНВС позволяет предположить нейропротекторное воздействие АуТМСК на аксоны ГКС у пациентов с РС. Данный эффект определяется уже через 6 месяцев после АуТМСК. Кроме того, у пациентов с РРС выявляется явная тенденция к истончению СНВС даже на фоне клинической ремиссии заболевания, что свидетельствует о постоянном прогрессировании аксональной дегенерации и ремиелинизации. Нейропротекторный эффект АуТМСК имеет свой пик через 6–12 месяцев после АуТМСК, через 2 года выраженность этого эффекта уменьшается, а затем через 3 года снова усиливается.

Результаты исследования распределения показателей полного макулярного объема

(ПМО) по группам до и после АуТМСК определено, что по количеству глаз с изменением ПМО через 6 месяцев, 1 год, 2 года и 3 года, статистически значимых различий между группами не выявлено.

Таким образом, целесообразно использовать показатель толщины перипапиллярного СНВС в мониторинге процессов нейропротекторного воздействия при клеточной терапии у пациентов с рассеянным склерозом. Учитывая морфометрическую гетерогенность между индивидуумами при данном заболевании, показатель толщины перипапиллярного СНВС может быть рекомендован как биологический маркер не только наличия и выраженности нейроаксональной дегенерации, но и ремиелинизирующего и нейропротекторного терапевтического воздействия у каждого отдельного пациента. При этом изменение толщины СНВС и ПМО после АуТМСК требует дальнейшего изучения. Необходимо также уточнить наиболее чувствительные биометрические параметры в определении терапевтического воздействия АуТМСК на ГКС у пациентов с РС.

Выводы

1. Применение клеточной терапии у пациентов с РРРС сопровождается увеличением толщины перипапиллярного СНВС через 6 месяцев после АуТМСК и сохраняется на протяжении 3 лет наблюдения;

2. Возрастание толщины перипапиллярного СНВС на фоне клеточной терапии с применением МСК указывает на их способность стимулировать процессы репарации в ЦНС при РРРС;

3. Оценка толщины перипапиллярного СНВС может быть рекомендована в качестве биомаркера выраженности нейродегенерации и мониторинга эффективности терапии, изменяющей клиническое течение рассеянного склероза.

Литература

1. Chandran S., Hunt D., Joannides A., Zhao C., Compston A., Franklin R. (2008) Myelin repair: the role of stem and precursor cells in multiple sclerosis. *Phil Trans R Soc B*, vol. 363, pp. 171–183.

2. Costello F., Hodge W., Pan Y. I., Eggenberger E., Coupland S. et al. (2008) Tracking retinal nerve fiber layer loss after optic neuritis: a prospective study using optical coherence tomography. *Mult Scler.*, no 14: pp. 65–70.

3. Fisher J., Jacobs D., Markowitz C., Galetta S., Volpe N., Nano-Schiavi M., Baier M., Frohman E., Winslow H., Frohman T., Calabresi P., Maguire M., Cutter G., Balcer L. (2006) Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology*, no 113, pp. 324–332.

4. Kristin M., Galetta S., Calabresi P., Frohman E., Balcer L. (2011) Optical Coherence Tomography (OCT): Imaging the Visual Pathway as a Model for Neurodegeneration. *The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, vol. 8, pp. 117–132.

5. Petzold A., Boer J., Schippling S., Vermersch P., Kardon R., Green A., Calabresi P., Polman C. (2010) Optical coherence tomography in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neuro.*, no 9, pp. 921–32.

6. Stefano N., Narayanan S., Francis G. S., Arnaoutelis R., Tartaglia M. C., Antel J. P., Matthews P. M., Arnold D. L. (2001) Evidence of axonal damage in the early stages of multiple sclerosis and its relevance to disability. *Arch Neurol.*, no 58, pp. 65–70.

7. Rivera F. and Aigner L. (2012) Adult mesenchymal stem cell therapy for myelin repair in multiple sclerosis. *Biol Res*, vol. 45, pp. 257–268.

8. Zimmermann H., Freing A., Kaufhold F., Gaede G., Bohn E., Bock M., Oberwahrenbrock T., Young K. L., Dörr J., Wuerfel J. T., Schippling S., Paul F., Brandt A. U. (2010) Optic neuritis interferes with optical coherence tomography and magnetic resonance imaging correlations. *Mult Scler.*, Apr; vol.19, no 4, pp.443–50. doi: 10.1177/1352458512457844.

Поступила 27.11.2020 г.