

Федулов А.С.<sup>1</sup>, Борисов А.В.<sup>1</sup>, Московских Ю.В.<sup>1</sup>, Зафранская М.М.<sup>2</sup>, Кривенко С.И.<sup>3</sup>, Нижегородова Д.Б.<sup>2</sup>, Логинов В.Г.<sup>1</sup>, Войтенкова А.А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

<sup>3</sup> 9-я городская клиническая больница г. Минска, Минск, Беларусь

<sup>4</sup> Республиканская клиническая больница медицинской реабилитации, Минск, Беларусь

Fedulov A.<sup>1</sup>, Borisov A.<sup>1</sup>, Moskovskih Yu.<sup>1</sup>, Zafranskaja M.<sup>2</sup>, Krivenko S.<sup>3</sup>, Nizhegorodova D.<sup>2</sup>, Loginov V.<sup>1</sup>, Voitenkova A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

<sup>2</sup> Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Belarus

<sup>3</sup> 9 City Clinical Hospital, Minsk, Belarus

<sup>4</sup> Republican Clinical Hospital of Medical Rehabilitation, Minsk, Belarus

## Аутологичная трансплантация мезенхимальных стволовых клеток как метод модификации клинического течения рассеянного склероза

Autologous transplantation of mesenchymal stem cells as a method of modification of clinical current of multiple sclerosis

### Резюме

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) способны экспрессировать разнообразные нейрорегуляторные молекулы и повышать выживаемость нейрональных клеток, обладают пластичностью и высоким дифференцировочным потенциалом. Использование MSC позволяет достичь иммуномодулирующего эффекта без применения иммуносупрессорной терапии и режима кондиционирования. Аутологичная трансплантация MSC у пациентов с рассеянным склерозом позволяет добиться стабилизации неврологического статуса и снизить риск возникновения активных очагов демиелинизации.

**Ключевые слова:** рассеянный склероз, аутологичная трансплантация, мезенхимальные стволовые клетки.

### Abstract

Mesenchymal stem cells (MSC) are capable of expressing various neuroregulatory molecules and increasing the survival rate of neuronal cells, have plasticity and a high potential for differentiating. Using MSC helps to achieve immunomodulatory effects without the use of immunosuppressive therapy and conditioning regimen. Autologous transplantation of MSC in patients with multiple sclerosis leads to stabilization of the neurological status and reduces the risk of active lesions of demyelination.

**Keywords:** multiple sclerosis, autologous transplantation, mesenchymal stem cells.



## ■ ВВЕДЕНИЕ

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) представляют собой мультипотентные клетки, которые персистируют в костном мозге, жировой ткани и других компартментах организма, где они представлены популяцией мультипотентных иммортальных клеток [1].

МСК обладают рядом уникальных биологических характеристик. Важнейшими среди них являются способность к экспрессии широкого спектра молекул клеточной адгезии, которые обеспечивают клеточное взаимодействие, хоуминг, и синтезу паракринных факторов, в том числе обладающих нейротрофической активностью [2].

С позиций современной парадигмы этиопатогенеза рассеянного склероза (РС), которая рассматривает это заболевание как воспалительно-дегенеративный аутоиммунный процесс, характеризующийся разрушением миелина и олигодендроцитов CD4<sup>+</sup>T-клетками, CD8<sup>+</sup>T-клетками и макрофагами, особое значение приобретает иммуномодулирующее действие МСК [3].

После инфузии *in vivo* МСК распределяются в разных органах, причем они мигрируют преимущественно в очаги поражений или воспаления, что свидетельствует о способности этих клеток реагировать на локальное микроокружение, реализовывать регенераторные свойства и способствовать структурно-функциональному восстановлению. Кроме того, существенным при оценке терапевтического потенциала МСК является доказательство их миграции в нервную систему.

В специальной литературе в настоящее время накопилось определенное количество публикаций, в которых исследуется эффективность аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (АуТМСК) при РС [1, 4, 5].

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить отдаленные результаты АуТМСК у пациентов с рецидивно-ремиттирующей клинической формой РС.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн – ретроспективное, когортное, лонгитюдное, открытое одно-центровое исследование. В исследование рекрутировано 20 пациентов с клинически верифицированным по критериям McDonald *et al.* (2010 г.) РС. Было сформировано 2 группы:

- исследуемая группа (ИГ) – 10 человек, которым проводилась АуТМСК;
- контрольная группа (КГ) – 10 человек, получавших симптоматическую терапию, трансплантация МСК не использовалась.

Обе группы сопоставимы по клинико-демографическим показателям (табл. 1).

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

Нейровизуализационное исследование пациентов осуществлялось с помощью МРТ головного мозга (Philips Intera, Голландия), индукция магнитного поля – 1 Тс, толщина срезов – 5 мм. Применялись стандартизованные последовательности МРТ. Для внутривенного усиления вводился парамагнетик омнискан в дозе 20–40 мл (в зависимости от массы тела).

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика пациентов с рассеянным склерозом (n=20)

Параметр	ИГ	КГ
Количество пациентов	10	10
Пол, ж/м	5/5	6/4
Возраст, лет <sup>1</sup>	33,0±5,4	40,9±5,1
Длительность заболевания, лет <sup>1</sup>	4,3±3,5	3,1±1,3
EDSS на этапе скрининга, баллы <sup>2</sup>	2,75 [2,0; 3,0]	2,75 [2,5; 3,5]
Количество обострений за год до АуТМСК <sup>2</sup>	1 [1; 1]	2 [1; 2]
Количество пациентов с активными очагами на МРТ на этапе скрининга <sup>2</sup>	0 [0; 2]	0 [0; 2]
Количество пассажей МСК костного мозга <sup>2</sup>	2 [2; 2]	-
Количество трансплантированных МСК, млн кл/кг <sup>1</sup>	1,64±0,71	-

Примечания:

<sup>1</sup> M±tm<sub>m</sub>;

<sup>2</sup> Me [межквартильный интервал].

Для оценки 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, относительный шанс, абсолютное снижение риска, абсолютное увеличение пользы, число пациентов, которых необходимо подвергнуть лечению\*.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выраженность инвалидизации по EDSS на этапе скрининга в обеих группах составляла 2,75 балла (ИГ – 2,75 [2,0; 3,0] и КГ – 2,75 [2,5; 3,5]). На рисунке представлена динамика данного показателя у пациентов ИГ и КГ за 2-летний период наблюдения. У пациентов, которым была выполнена АуТМСК, средний балл по EDSS за время наблюдения увеличился только на 0,25, в то время как у пациентов контрольной группы отмечалось нарастание инвалидизации на 1,0 балла. При оценке неврологического статуса пациентов ИГ по шкале EDSS до АуТМСК и через 26,8±5,8 месяца статистически значимое различие не определялось (Wilcoxon=1,47, p=0,14). Среди пациентов КГ через 21,8±4,0 меся-

\* Относительный риск (OR, risk ratio – RR) – отношение риска в группе пациентов, которым проводилась АуТМСК, и в контрольной группе.

Относительный шанс (ОШ, Odds Ratio, OR) – отношение шансов нарастания неврологического дефицита или возникновения активных очагов демиелинизации по данным МРТ головного мозга в исследуемой и контрольной группах.

Абсолютное снижение риска (АСР, Absolute Risk Reduction, ARR) – абсолютное арифметическое различие в частоте случаев ухудшения неврологического статуса в группе пациентов, которым проводилась АуТМСК, и в контрольной группе.

Абсолютное увеличение пользы (АУП, Absolute Benefit Increase, ABI) – абсолютное арифметическое различие между частотой возникновения активных очагов демиелинизации по данным МРТ головного мозга в исследуемой и контрольной группах. Число пациентов, которых необходимо подвергнуть лечению (ЧПЛП) с использованием АуТМСК для предотвращения одного дополнительного случая возникновения активных очагов демиелинизации.



ца наблюдалось достоверное увеличение неврологического дефицита (Wilcoxon=2,67, p=0,008).

Сравнение выраженности инвалидизации по шкале EDSS между пациентами, которым проводилась АуТМСК, и пациентами контрольной группы показало следующие результаты: у 50,0% пациентов с РС, в терапии которых использовалась АуТМСК, через 2 года наблюдения имела место положительная динамика либо стабилизация неврологического статуса, в то время как у большинства пациентов КГ – 90,0% – наблюдалась отрицательная динамика (табл. 2).

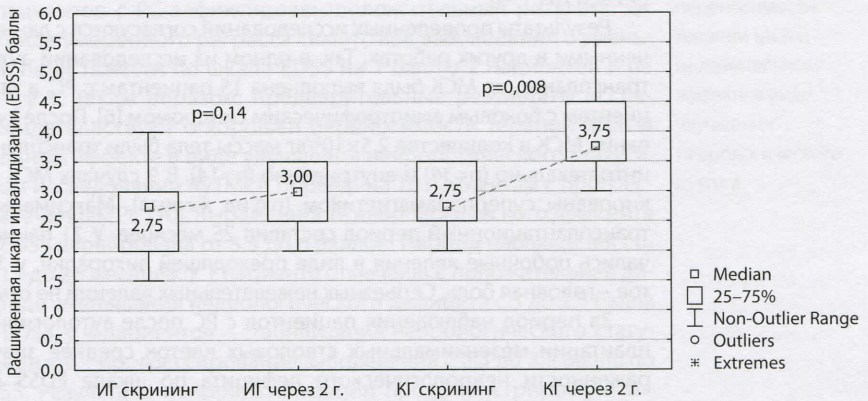
Средний балл по шкале EDSS у пациентов с РС через 2 года после трансплантации был статистически достоверно ниже, чем среди пациентов, которым проводилась симптоматическая терапия (Fisher exact p=0,043, one-tailed). Следовательно, в группе пациентов, которым выполнялась АуТМСК, выраженность инвалидизации была меньше по сравнению с контрольной группой.

Относительный риск нарастания неврологического дефицита более чем на 0,5 балла по шкале EDSS у пациентов, лечение которых проводилось по стандартным протоколам, в 1,83 раза (95%-й ДИ 0,92–3,82) выше, чем у пациентов после трансплантации СК.

Абсолютное снижение риска ухудшения неврологического статуса в условиях применения АуТМСК составило 41,7% (95%-й ДИ 4,8–78,6%).

В табл. 3 представлены результаты МРТ головного мозга у пациентов с РС.

Среди пациентов с РС, которым выполнялась АуТМСК, количество активных очагов демиелинизации по данным МРТ было достоверно



### Динамика неврологического статуса пациентов с РС

Таблица 2

Динамика неврологического статуса по шкале EDSS у пациентов с РС (n=20)

Группы	Динамика неврологического статуса		Всего
	отсутствие изменений или увеличение инвалидизации на 0,5 балла	увеличение инвалидизации более чем на 0,5 балла	
Исследуемая группа	5 (50,0%)	5 (50,0%)	10 (100,0%)
Контрольная группа	1 (10,0%)	9 (90,0%)	10 (100,0%)

**Таблица 3**

**Частота выявления активных очагов демиелинизации по данным МРТ головного мозга у пациентов с РС (n=20)**

Группы	Активные очаги демиелинизации		Всего
	количество пациентов с активными очагами демиелинизации	количество пациентов без активных очагов демиелинизации	
Исследуемая группа	2 (20,0%)	8 (80,0%)	10 (100,0%)
Контрольная группа	8 (80,0%)	2 (20,0%)	10 (100,0%)

меньше (Fisher exact  $p=0,023$ , two-tailed), чем среди пациентов контрольной группы.

Относительный риск возникновения активных очагов после проведения АуТМСК, по сравнению с применением лечения по традиционным протоколам, равен 0,250 (95%-й ДИ 0,064–0,974). Следовательно, ОР появления активных очагов после проведения АуТМСК в 4,0 раза (95%-й ДИ 1,027–15,625) ниже, чем при использовании симптоматической терапии.

Относительный шанс возникновения активных очагов после АуТМСК составил 0,63 (95%-й ДИ 0,006–0,644) от шансов появления таких очагов при применении симптоматической терапии.

Абсолютное увеличение пользы у пациентов исследуемой группы составило 60,0% (95%-й ДИ 22,7–97,3%) по сравнению с пациентами контрольной группы.

Число пациентов, которых необходимо подвергнуть лечению (ЧПЛП) с использованием АуТМСК для предотвращения одного дополнительного случая возникновения активных очагов, составляет 2 (95%-й ДИ 1–4).

Результаты проведенных исследований согласуются с данными, полученными в других работах. Так, в одном из исследований аутологичная трансплантация МСК была выполнена 15 пациентам с РС, а также 19 пациентам с боковым амиотрофическим синдромом [6]. После культивирования МСК в количестве  $2,5 \times 10^6$ /кг массы тела были трансплантированы интратекально ( $n=34$ ) и внутривенно ( $n=14$ ). В 9 случаях МСК были маркированы суперпарамагнетиком (оксид железа). Максимальный посттрансплантационный период составил 25 месяцев. У 21 пациента отмечались побочные явления в виде преходящей лихорадки, у 15 пациентов – головная боль. Серьезных нежелательных явлений не отмечалось.

За период наблюдения пациентов с РС после аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток среднее значение выраженности неврологического дефицита по шкале EDSS снизилось с 6,7 балла до 5,9 балла. Клинической или нейрорадиологической активности заболевания обнаружено не было. МРТ головного и спинного мозга с использованием супермагнетика выявила МСК в головном мозге (преимущественно в перивентрикулярных отделах задних рогов боковых желудочков), нервных корешках и паренхиме спинного мозга.

Таким образом, исследование продемонстрировало безопасность и эффективность АуТМСК у пациентов с РС, а также доказало способность МСК мигрировать в ЦНС при внутривенном и интратекальном введении.

В другом исследовании аутологичная ТМСК выполнена 7 пациентам с вторично-прогрессирующим РС и выраженностью неврологического дефицита по шкале EDSS от 4,5 до 7 баллов. Для трансплантации



использовали МСК 3–4 пассажа в концентрации  $3\text{--}5 \times 10^7$ , которые вводились интратекально. Результаты исследования продемонстрировали улучшение неврологического статуса у 5 пациентов, стабилизацию – у 1 пациента и прогрессирование – у 1 пациента спустя 6 месяцев после АуТМСК. МРТ головного мозга с введением контрастного препарата 3 месяца после терапии выявила новые или увеличение размеров уже имевшихся Т2-очагов у 5 пациентов, очаги, накапливающие парамагнетик, у 3 пациентов. Полученные данные указывают на клиническую эффективность АуТМСК при сохраняющейся активности патологического процесса по данным МРТ [7, 8].

Под руководством М.М. Одинака аутологичная трансплантация МСК костного мозга была выполнена 3 пациентам с РС и 10 пациентам с боковым амиотрофическим синдромом [9]. Выраженность неврологического дефицита по шкале EDSS у пациентов с РС составила 6,0; 6,5 и 3,5 балла соответственно. Критериями включения в исследование для пациента с РС были: установленный по критериям McDonald диагноз РС; прогрессирующее за последние 1–3 года течение заболевания; наличие стойкого неврологического дефицита, возникшего в результате прогрессирующего течения РС (по шкале EDSS); резистентность к традиционным методам терапии, в том числе применявшимся в условиях стационара за последние 6–12 месяцев.

Введение МСК проводилось в соответствии с оригинальным разрабатанным протоколом путем короткой внутривенной инфузии в дозе  $2 \times 10^6$  клеток/кг массы тела, кратностью 1 раз в 30 дней. Все пациенты повторные внутривенные инфузии аутологичных МСК перенесли хорошо, какие-либо значимые побочные эффекты терапии не выявлены. У всех 3 пациентов с РС зафиксирован положительный результат от лечения в виде умеренного регресса симптомов заболевания с уменьшением степени тяжести по шкале EDSS на 1 балл у 2 пациентов и на 0,5 балла – у 1. Таким образом, предварительные результаты исследования свидетельствуют о хорошей переносимости терапии МСК и положительном эффекте в виде улучшения неврологического статуса.

В другом исследовании АуТМСК проведена 10 пациентам с прогрессирующим течением РС [10]. Выраженность неврологического дефицита по шкале EDSS варьировала от 3,5 до 6 баллов. Период наблюдения составил от 13 до 26 месяцев. У 1 пациента отмечалась положительная динамика в виде уменьшения неврологического дефицита с 5 до 2,5 балла по шкале EDSS, у 4 пациентов – стабилизация неврологического статуса, у 5 пациентов – прогрессирование заболевания с 0,5 до 2,5 балла по шкале EDSS. Результаты нейровизуализации продемонстрировали отсутствие новых очагов у 7 пациентов, уменьшение количества очагов у 1 пациента и 1 новый очаг у 2 пациентов. Следовательно, предварительные результаты работы указывают на способность АуТМСК подавлять иммунное воспаление по данным МРТ головного мозга.

Результаты клинических исследований АуТМСК у пациентов с РС указывают на безопасность проведенной терапии. Выраженных, а также длительных побочных действий от применения МСК не отмечалось. Среди пациентов, которым проводилась трансплантация, среднее значение выраженности неврологического дефицита по шкале EDSS стабилизировалось или снижалось. Результаты нейровизуализации у па-

Предварительные результаты исследования свидетельствуют о хорошей переносимости терапии МСК и положительном эффекте в виде улучшения неврологического статуса.

циентов с РС, которым проводилась АуТМСК, противоречивы. Однако в большинстве случаев у пациентов после трансплантации активные очаги демиелинизации при МРТ выявлены не были. Таким образом, результаты АуТМСК свидетельствуют о том, что это эффективный и безопасный метод терапии рассеянного склероза.

## ■ ВЫВОДЫ

1. Оценка динамики неврологического статуса за 2-летний период наблюдения у пациентов после применения трансплантации МСК показывает стабилизацию процесса. Относительный риск нарастания неврологического дефицита более чем на 0,5 балла по шкале EDSS в 1,83 раза (95%-й ДИ 0,92–3,82) выше у пациентов, лечение которых проводилось по стандартным протоколам, чем у пациентов после трансплантации СК.
2. Риск появления активных очагов после проведения АуТМСК в 4,0 раза (95%-й ДИ 1,027–15,625) ниже, чем при использовании стандартной терапии.

---

## ■ ЛИТЕРАТУРА

1. Cohen J.A. (2013) Mesenchymal stem cell transplantation in multiple sclerosis. *J. Neurol Sci.*, vol. 333 (1–2), pp. 43–49.
2. Darlington P.J., Boivin M.N., Bar-Or A. (2011) Harnessing the therapeutic potential of mesenchymal stem cells in multiple sclerosis. *Expert Rev. Neurother.*, vol. 11 (9), pp. 1295–1303.
3. Payne N., Sun G., McDonald C. (2013) Distinct immunomodulatory and migratory mechanisms underpin the therapeutic potential of human mesenchymal stem cells in autoimmune demyelination. *Cell. Transplant.*, vol. 22 (8), pp. 1409–1425.
4. Fedulov A., Borisov A., Zafranskaya M., Ionova. O. (2014) Dinamika neurologicheskogo statusa patsientov s rasseyannim sklerozom posle AuTMSK [The dynamics of neurological status of patients with multiple sclerosis after AuTMSK]. *Aktual'nie problemi i dostizheniya v meditsine*, ITSRON, Samara, pp. 75–77.
5. Fedulov A., Borisov A., Zafranskaya M., Karapetyan G., Krivenko S., Andreeva M. (2014) Dinamika neurovizualizatsionnih parametrov u patsientov s rasseyannim sklerozom, proshedshih AuTSMK [Dynamics of neurovisual parameters in patients with multiple sclerosis after AuTSMK]. *Aktual'nie problemi i dostizheniya v meditsine*. ITSRON, Samara, pp. 72–78.
6. Uccelli A., Laroni A., Freedman M.S. (2013) Mesenchymal stem cells as treatment for MS - progress to date. *Mult Scler.*, 19 (5), pp. 515–9.
7. Karussis D., Petrou P., Kassis I. (2013) Clinical experience with stem cells and other cell therapies in neurological diseases. *J Neurol Sci.*, 15; 324 (1–2), pp. 1–9.
8. Connick P., Kolappan M., Crawley C. (2012) Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol.*, 11 (2), pp. 150–156.
9. Odinak M., Bisaga G., Novitskii A. (2009) Autologichnaya transplantatsiya mul'tipotentnih mezenhimal'nih stvolovih kletok pri bokovom amiotroficheskom skleroze i rasseyannom skleroze [Autologous transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis and multiple sclerosis]. *Vestn. Ros. Voen.-med. akad.*, no 3, pp. 38–42.
10. Mohammad Ali Sahraian, Mandana Mohyeddin Bonab, Sanaz Ahmadi Karvigh (2014) Intrathecal Mesenchymal stem cell therapy in Multiple Sclerosis: a follow-up study for five years after. *Injection Archives of Neuroscience*, 1 (2), pp. 71–75.