

Качан Т.В., Марченко Л.Н., Федулов А.С.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Мониторинг воздействия трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток на развитие оптической нейропатии у пациентов с рассеянным склерозом

Резюме

Для мониторинга влияния аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на процессы аксональной и нейрональной дегенерации у пациентов с рассеянным склерозом проведена оптическая когерентная томография (ОКТ) (Stratus OCT модель 3000) восьми пациентам (16 глаз) от 21 до 42 лет основной группы и 10 пациентам от 20 до 41 года контрольной группы с рецидивно-ремиттирующей формой заболевания. Через 6 и 12 месяцев выявлена значимая разница в количестве глаз, в которых средняя толщина слоя перипапиллярных нервных волокон увеличилась по сравнению с таковой до АТМСК (преобладала в основной

группе) и в количестве глаз с уменьшением толщины СПНВ (преобладала в контрольной группе). Таким образом, ОКТ рекомендуется для мониторинга развития оптической нейропатии у пациентов с РС. Аутологичная трансплантация МСК оказывает ремиелинизирующее и нейропротекторное воздействие на нервную ткань у пациентов с рецидивно-ремиттирующей формой РС.

Ключевые слова: оптическая когерентная томография, оптическая нейропатия, аутологичная трансплантация.

Resume

Optical coherence tomography (OCT) has been performed on two groups of patients to monitor the influence of mesenchymal stem cells (MSC) transplantation on process of axonal and neuronal degeneration in patients with multiple sclerosis (MS). The first (main) group consisted of 8 people (16 eyes) from 21 to 42 years old, the second (control) one – 10 people (20 eyes) from 20 to 41 years old with relapsing-remitting form of disease. Significant difference in the number of eyes with increasing average thickness of retinal nerve fiber layer (RNFL) (prevailed in main group) and decreasing RNFL (prevailed in control group) was revealed in 6 and 12 months after transplantation. Thus OCT is recommended for monitoring the development of optic neuropathy in patients with MS. Autologous MSC transplantation has remyelinating and neuroprotective effects on the nervous tissue in patients with relapsing-remitting form of MS.

Keywords: optical coherence tomography, optic neuropathy, autologous transplantation.

Актуальность работы

Рассеянный склероз (РС) является хроническим, прогрессирующим, мультифакторным аутоиммунным заболеванием центральной нервной системы и представляет одну из наиболее социально и экономически значимых проблем современной неврологии.

При развитии заболевания нарушается баланс 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 [1].

Кортикостероиды, иммуномодуляторы, иммуносупрессанты и методы эфферентной терапии не дают продолжительного, устойчивого эффекта. Вместе с тем применение глюкокортикоидов и иммуносупрессантов опасно в связи с многочисленными побочными эффектами. Использование для лечения РС препаратов, меняющих течение заболевания, таких как интерфероны и глатирамера ацетат, не приводит к излечиванию пациентов, а только снижает активность патологического процесса. Значительная часть пациентов остается резистентной к данной группе дорогостоящих медикаментозных средств [5,3,7]. Наиболее патогенетически обоснованной представляется технология лечения, которая была бы направлена не на отдельные звенья патогенеза, а на осуществление функциональной переустановки иммунной системы больных РС. К подобному способу лечения относится трансплантация мезенхимальных стволовых клеток, которые представляют собой мультипотентные клетки, находящиеся в костном мозге, жировой ткани, плаценте, пуповинной крови. МСК обладают рядом уникальных свойств, позволяющих рассматривать их трансплантацию перспективным методом лечения РС [6, 9, 10]:

- способность экспрессировать разнообразные нейрорегуляторные молекулы и повышать выживаемость нейрональных клеток, а также нейритогенез;
- способность к быстрому увеличению клеточной популяции *in vitro* для получения достаточной концентрации биологического материала с целью использования *in vivo*;

- низкая иммуногенность, что позволяет использовать как ауто-, так и аллогенные трансплантаты без применения иммуносупрессорной терапии для предупреждения реакции отторжения;
- пластичность и высокий дифференцировочный потенциал.

Для визуализации и мониторинга процессов нейродегенерации и терапевтической нейропротекции идеальной структурой является сетчатка. Она представляет собой уникальную часть центральной нервной системы (ЦНС), содержащую в слое нервных волокон сетчатки (СНВС) аксоны и глию, но лишенные миелина, до тех пор, пока ретинальные аксоны не проникнут через решетчатую пластинку. Ни один другой участок ЦНС не имеет такого уникального расположения.

В офтальмологии для прижизненного изучения сетчатки и ДЗН широко используется оптическая когерентная томография (ОКТ). ОКТ позволяет исследовать задний отрезок глазного яблока с чрезвычайно высоким разрешением, без хирургической биопсии и даже без контакта с глазом [8, 9]. В оптическом когерентном томографе применяется техника низко-когерентной интерферометрии. Принцип действия интерферометрии очень похож на принцип действия ультразвука, однако в нем использует свет вместо звука. Также как и при ультразвуковых исследованиях, световые волны проникают в ткани глаза, отражаются от различных структур, после чего проходят специальную компьютерную обработку для получения изображения. Таким образом, метод позволяет проводить прижизненную, так называемую, оптическую биопсию сетчатки и ДЗН и оценивать структурные изменения на качественно новом уровне. Уникальные возможности ОКТ делают это исследование ведущим при диагностике и мониторинге патологических изменений сетчатки [8, 4, 2].

Так как морфологической основой перипапиллярного слоя ретинальных нервных волокон являются аксоны ганглиозных клеток сетчатки (ГКС), то слой перипапиллярных нервных волокон (СПНВ) является идеальной структурой для визуализации и мониторинга процессов аксональной дегенерации. В отличие от СПНВ, содержащих аксоны, макула содержит большую долю нейронов ГКС (около 34% всего макулярного объема) и, следовательно, толщина нейрорепителителя сетчатки (НЭС) в макулярной зоне (аналогично его макулярному объему) отражает нейрональную целостность ГКС. Таким образом, протокол измерения СПНВ является наиболее патогенетически обоснованным для выявления и мониторинга процессов аксональной дегенерации, а протокол измерения толщины НЭС в макулярной зоне (макулярного объема) – для выявления и мониторинга процессов нейрональной дегенерации сетчатки.

Цель исследования

Разработать способ мониторинга воздействия аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (АТМСК) на процессы аксональной и нейрональной дегенерации ганглионарных клеток сетчатки у пациентов с рассеянным склерозом.

Материал и методы исследований

В основную группу исследования вошли 8 пациентов с РС, рецидивно-ремиттирующей формой, которым была проведена АТМСК в возрасте от 21 до 42 лет. Контрольную группу составили 10 человек с РС, рецидивно-ремиттирующей формой заболевания, в возрасте от 20 до 41 года. Все пациенты получали глюкокортикостероидную терапию при обострениях. Ни один из пациентов не получал терапии, модифицирующей течение заболевания.

Для проведения ОКТ заднего отрезка глазного яблока использовался оптический когерентный томограф Stratus OCT модель 3000 фирмы CarlZeis Meditec с источником света суперлюминесцентным диодом длиной волны 820 nm. Название Stratus OCT (производное от

«stratum», по-латыни «слой») описывает уникальный принцип действия для непосредственно создания изображений слоев сетчатки в разрезе.

У пациентов основной группы оценивались результаты ОКТ до АТМСК, через 6 и 12 месяцев. Для мониторинга аксональной и нейрональной дегенерации у пациентов с рассеянным склерозом использовались соответственно два основных протокола:

- анализ толщины слоя ретинальных нервных волокон (СРНВ) перипапиллярной зоны диаметром 3,4 мм концентрично окружности диска зрительного нерва;
- картирование макулярной зоны по толщине и объёму сетчатки, используя радиальные сканы макулы длиной 6 мм.

Результаты

Данные распределения средней толщины слоя перипапиллярных нервных волокон (Avg. Thickness) по группам представлены в табл. 1.

Таблица 1
Средняя толщина СРНВ (μ) до и после АТМСК – Ме (25%, 75%)

Группа	до АТМСК	через 6 мес.	через 1 г.
Основная	83,48 (70,49,100,86)	83,99 (71,06, 98,99)	86,14 (73,17, 103,71)
Контрольная	84,46 (73,32, 99,1)	81,88 (72,5, 96,5)	78,78 (69,5, 94,1)

Через 6 мес. количество глаз, в которых средняя толщина СРНВ увеличилась по сравнению с таковой до АТМСК в основной группе достоверно было больше по сравнению с контрольной. Также значимой оказалась разница у пациентов контрольной и основной групп по показателю истончения СРНВ, их количество преобладало в контрольной. Полученные данные представлены в табл. 2.

Таблица 2
Результаты изменения толщины СРНВ после АТМСК через 6 мес. (% , абс.)

Средн толщина СРНВ	Основная группа, абс. (%)	Контрольная группа, абс. (%)	Достоверность различий
С утолщением СРНВ. Из них:	56,25(9)	10(2)	F=0,25, p<0,01
+10 μ и более	12,5 (2)	0	-
+ до 10 μ	43,75 (7)	10(2)	F=0,15, p<0,05
без изменений	25(4)	25 (5)	-
с истончением	18,75 (3)	65(13)	F=0,21, p<0,01

Через год после АТМСК сохранялись значимые различия основной и контрольных групп по количеству глаз, толщина СРНВ в которых увеличилась по сравнению с исходной (их количество преобладало в основной). Также значимой оставалась разница у пациентов основной и контрольных групп по количеству глаз с истончением СРНВ (преобладало в контрольной). Данные представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты изменения толщины СПНВ после АТМСК через 12 мес. (% , абс.)

Средн толшина СПНВ	Основная группа, абс. (%)	Контрольная группа, абс. (%)	Достоверность различий
С утолщением СПНВ. Из них:	50(6)	0	F=0,38, p<0,01
+10 м и более	8,3 (1)	5(1)	–
+ до 10 м	41,7 (5)	0	F=0,31, p<0,01
без изменений	8,3 (1)	15(3)	–
с истончением	41,7 (5)	80(16)	F=0,15, p<0,01

Таким образом, анализ результатов мониторинга СПНВ позволяет сделать вывод о ремиелинизирующем и нейропротекторном воздействии АТМСК на аксональную ткань у пациентов с РС. Кроме того, у пациентов с рецидивно-ремиттирующей формой РС выявляется явная тенденцию к истончению СПНВ даже на фоне клинической ремиссии заболевания, что свидетельствует о прогрессировании аксональной дегенерации.

Данные распределения показателей полного макулярного объема по группам до и после АТМСК представлены в табл. 4.

Таблица 4

Показатели полного макулярного объема (ПМО) до и после АТМСК Ме (25%, 75%)

Группа	до АТМСК	через 6 мес.	через 1 г.
Основная	6,865 (6,369,7,329)	6,797 (6,399, 7,19)	6,870 (6,387, 7,417)
Контрольная	6,776 (6,339, 7,336)	6,866 (6,342, 7,44)	6,823 (5,969, 7,417)

Показатели полного макулярного объема у пациентов основной группы через 6 и 12 мес. после АТМСК достоверно не отличались от таковых в контрольной группе. Данные представлены в табл. 5 и табл. 6.

Таблица 5

Динамика изменения полного макулярного объема через 6 мес. после АТМСК (% , абс.)

ПМО	Основная группа, абс. (%)	Контрольная группа, абс. (%)	Достоверность различий
с увеличением	12,5 (2)	10 (2)	–
без изменений	56,25 (9)	30 (6)	–
с истончением	31,25 (5)	60 (12)	–

Таблица 6

Динамика изменения полного макулярного объема через 12 мес. после АТМСК (% , абс.)

ПМО	Основная группа, абс. (%)	Контрольная группа, абс. (%)	Достоверность различий
с увеличением	33,33 (4)	20 (4)	–
без изменений	33,33 (4)	40 (8)	–
с истончением	33,33 (4)	40 (8)	–

Анализ результатов мониторинга ПМО позволяет предположить нейропротекторное влияние АТМСК на ткань сетчатки. Также определяется тенденция к истончению ПМО даже на фоне клинической ремиссии заболевания, что свидетельствует о прогрессировании нейрональной дегенерации у пациентов с рецидивно-ремиттирующей формой РС.

Выводы

1. ОКТ предоставляет возможности диагностики, дифференцировки и мониторинга всех механизмов патогенеза РС – воспаления, ретробульбарной демиелинизации, аксональной и нейрональной дегенерации.
2. Аутологичная трансплантация МСК оказывает ремиелинизирующее и нейропротекторное воздействие на нервную ткань у пациентов с рецидивно-ремиттирующей формой РС.

Литература

1. Нижегородова, Д.Б. Современные аспекты иммунопатогенеза рассеянного склероза / Д.Б. Нижегородова, М. Эберль, М.М. Зафранская // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2005, № 2. – С. 44–55.
2. Albrecht, P., Froehlich, R., Hartung, H.P. et al. Optical coherence tomography measures axonal loss in multiple sclerosis independently of optic neuritis // *J. Neurol.* – 2007; 254: 1595–96.
3. Boissy, A. Current treatment options in multiple sclerosis / A. Boissy, R.J. Fox. // *Current Treatment Options in Neurology.* – 2007. – № 9. – P. 176–186.
4. Frohman, E., Costello, F., Zivadinov, R. et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis / E. Frohman [et al.] // *Lancet Neurol.* – 2006. – Vol. 5. – P. 853–863.
5. Hohlfeld, R. Biotechnological agents for the immunotherapy of multiple sclerosis. Principles, problems and perspectives [Invited review] / R. Hohlfeld // *Brain.* – 1997. – Vol. 120. – P. 865–916.
6. Lanza, C. Neuroprotective mesenchymal stem cells are endowed with a potent antioxidant effect in vivo / C. Lanza, S. Morando, A. Voci // *Journal of Neurochemistry.* – 2009. – № 110. – P. 1674–1684.
7. O'Connor, P. Key issues in the diagnosis and treatment of multiple sclerosis: an overview / P.O'Connor // *Neurology.* – 2002. – № 59. – S1–33.
8. Optical coherence tomography / D. Huang [et al.] // *Science.* – 1991. – Vol. 254. – P. 1178–1181.
9. Payne, N. The promise of stem cell and regenerative therapies for multiple sclerosis / N. Payne, C. Siatskas, C.A. Bernard // *Journal of Autoimmunity.* – 2008. – № 31. – P. 288–294.
10. Shih, D.T. Isolation and characterization of neurogenic mesenchymal stem cells in human scalp tissue // D.T. Shih, D.C. Lee, S.C. Chen // *Stem. Cells.* – 2005. – № 23. – P. 1012–1020.