

Применение мезенхимальных стволовых клеток при атрофии зрительных нервов у больных рассеянным склерозом: пилотное исследование

Г.Н. Бисага¹, А.В. Коваленко¹, Г.Е. Исаева¹, И.Ю. Коваленко¹, А.В. Новицкий², И.В. Литвиненко¹

¹ФГБ ВО УВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБУЗ Клиническая больница № 122 им. Л.Г. Соколова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Клеточная терапия рассеянного склероза рассматривается в настоящее время как один из наиболее перспективных вариантов лечения при данном тяжелом заболевании нервной системы.

Материалы и методы. Двум пациентам с рецидивирующе-ремитирующим рассеянным склерозом (PPPC), осложненным частичной атрофией зрительных нервов (АЗН) вследствие двустороннего ретробульбарного неврита, проведено лечение с использованием аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (МСК). МСК были получены при помощи аспирационной биопсии костного мозга с последующим их выделением, культивированием и криохраниением. Введение МСК проводили в соответствии с разработанным протоколом путем короткой внутривенной инфузии в ресуспендирующем растворе 5% глюкозы с добавлением 10% аутоыворотки в количестве $2,0 \times 10^6$ /кг массы тела в сочетании с локальным парабульбарным введением МСК в количестве 10×10^6 1 раз в месяц в течение 4 месяцев. Контрольную группу составили два пациента с PPPC с частичной АЗН, имевшие такие же возраст и тяжесть заболевания, которые получали стандартную терапию (метаболическую и глюкокортикоидную).

Результаты. Неврологическое и нейроофтальмологическое обследования проведены до и спустя 6 месяцев после лечения. В проведенном пилотном исследовании установлена безопасность разработанного протокола лечения МСК и, согласно предварительным данным, умеренная клиническая эффективность терапии у некурабельных больных с PPPC с АЗН.

Заключение. Полученные данные позволяют расширить программу клинических исследований клеточной терапии при рассеянном склерозе.

Ключевые слова: рассеянный склероз, зрительный нерв, атрофия, мезенхимальные стволовые клетки, трансплантация, демиелинизация, дегенерация.

Для цитирования: Бисага Г.Н., Коваленко А.В., Исаева Г.Е. и др. Применение мезенхимальных стволовых клеток при атрофии зрительных нервов у больных рассеянным склерозом: пилотное исследование. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2017; 11(2): 29–35.

DOI: 10.18454/ACEN.2017.2.4

The use of mesenchymal stem cells in optic nerve atrophy in patients with multiple sclerosis: A pilot study

Gennadiy N. Bisaga¹, Anzhelika V. Kovalenko¹, Galina E. Isaeva¹, Igor' Yu. Kovalenko¹, Andrey V. Novitsky², Igor' V. Litvinenko¹

¹S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;

²Clinical Hospital no. 122, Federal Medical-Biological Agency of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

Introduction. Cellular therapy of multiple sclerosis is currently considered to be one of the most promising treatment alternatives for this severe pathology of the nervous system.

Materials and methods. Two patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) complicated by partial optic nerve atrophy (ONA) caused by bilateral retrobulbar optic neuritis received treatment using autologous multipotent mesenchymal stem cells (MSCs). MSCs were derived by bone marrow aspiration/biopsy followed by isolation, culturing, and cryostorage. MSCs were administered in compliance with the developed protocol by short-term intravenous infusion of resuspension solution of 5% glucose supplemented with 10% autoserum at a dose of 2.0×10^6 /kg body weight in combination with local parabolbar administration of MSCs at a dose of 10×10^6 once per month during 4 months. The control group consisted of 2 patients of the same age with RRMS with partial ONA of the same severity who received background (metabolic and glucocorticoid) therapy.

Results. Neurological and neuro-ophthalmological examination was carried out before and 6 months after treatment. The pilot study performed demonstrated that the elaborated protocol for MSC therapy is safe and, according to the preliminary data, therapy was characterized by moderate clinical effectiveness in incurable patients with RRMS and ONA.

Conclusions. The findings make it possible to broaden the range of clinical studies focused on cellular therapy for multiple sclerosis.

Keywords: multiple sclerosis, optic nerve, atrophy, mesenchymal stem cells, transplantation, demyelination, degeneration.

For citation: Bisaga G.N., Kovalenko A.V., Isaeva G.E. et al. [The use of mesenchymal stem cells in optic nerve atrophy in patients with multiple sclerosis: A pilot study]. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2017; 11(2): 29–35. (In Russ.)

DOI: 10.18454/ACEN.2017.2.4

Введение

Рассеянный склероз (РС) – воспалительно-демиелинизирующее и нейродегенеративное заболевание, поражающее преимущественно молодых лиц (в возрасте 20–40 лет) и приводящее к постепенной инвалидизации. РС встречается с частотой 30–70 случаев на 100 тыс. населения в России, максимальная его частота отмечена в Северо-Западном регионе страны. Поэтому, помимо медицинской, заболевание имеет существенную социально-экономическую значимость [1, 2].

Одной из наиболее важных причин инвалидизации при РС является нарушение зрения с атрофией зрительных нервов (АЗН), которое возникает вследствие воспалительной демиелинизации и дегенеративного повреждения аксонов, обусловленного действием комплекса различных факторов [3, 4]. Эффективных методов лечения АЗН, развившейся вследствие перенесенного ретроульбарного неврита (РБН), нет. Данное обстоятельство обусловлено тем, что большое количество лекарственных средств предложено для лечения воспалительного процесса, а препаратов, обладающих доказанной способностью эффективно тормозить повреждение аксонов, а тем более оказывать регенеративное действие на них, в настоящее время не существует [4, 5].

Одним из перспективных и патогенетически направленных методов лечения нейродегенеративных заболеваний, включая РС, является трансплантация аутологичных полипотентных мезенхимальных стволовых клеток (МСК), обладающих доказанным трофическим и репаративным потенциалом [6–8]. Однако при системном введении МСК убедительных данных о положительном воздействии терапии на зрительные функции не получено [6, 8], вероятно, вследствие недостаточной концентрации МСК в структурах зрительной системы. Данные об эффективности и переносимости сочетанного локального и системного применения МСК при таком некурабельном осложнении РС, как АЗН, отсутствуют, что позволило инициировать настоящее исследование.

Цель исследования – оценить безопасность, переносимость и эффективность терапии аутологичными МСК при их сочетанном введении больным с АЗН, обусловленной воспалительно-нейродегенеративным процессом при РС.

Материалы и методы

Всего обследовано четверо пациентов с достоверным диагнозом РППС по критериям McDonald [9], находившихся в стадии ремиссии и имевших некурабельную АЗН вследствие двустороннего РБН (табл. 1).

Все пациенты получали лечение одним из стандартных иммуномодулирующих препаратов I линии (глатирамером ацетата 20 мг подкожно ежедневно, интерфероном бета-1a 30 мкг внутримышечно 1 раз в неделю или интерфероном бета-1b 8 млн МЕ подкожно через день) не менее 12 мес и

находились в состоянии ремиссии на протяжении не менее 2 мес до включения в исследование. При обострении РС все пациенты в прошлом получали повторные курсы кортикостероидной терапии метилпреднизолоном внутривенно капельно в дозе 3–5 г. Критерием включения пациентов в исследование была некурабельность АЗН, проявляющаяся отсутствием в течение одного и более лет клинического эффекта на зрительные функции от проводимой вышеупомянутой стандартной терапии. Степень тяжести заболевания оценивали по шкале инвалидизации EDSS Kurtzke (1983) [10].

Протокол исследования одобрен этическим комитетом и ученым советом Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Аутологичные МСК получены при помощи аспирационной биопсии костного мозга в количестве 80–100 мл. В условиях сертифицированной лаборатории ООО «Транстехнологии» было произведено их выделение, культивирование и криохранение [6]. Обратное введение МСК проводили в соответствии с разработанным протоколом путем короткой внутривенной инфузии МСК в ресуспенсирующем растворе 5% глюкозы с добавлением 10% аутосыворотки в количестве $2,0 \times 10^6$ /кг

Таблица 1. Характеристика обследованных пациентов с РС и оптическим невритом в анамнезе (двухсторонним)

Параметры	Основная группа		Контрольная группа	
	№1	№2	№3	№4
Пациенты с РС	№1	№2	№3	№4
Пол	ж	м	ж	м
Возраст, лет	27	32	25	27
Длительность заболевания РС, лет	14	5	7	5
EDSS, баллы	4	3,5	3,5	4
Скорость прогрессирования РС ¹	0,3	0,7	0,5	0,8

Примечание: ¹ скорость прогрессирования процесса в относительных единицах рассчитывали как соотношение тяжести заболевания по Kurtzke (1983) (в баллах) к его длительности (число лет).

Table 1. Characteristics of the examined patients with MS and optic neuritis in the anamnesis (bilateral)

Characteristics	Main group		Control group	
	№1	№2	№3	№4
Patients with MS	№1	№2	№3	№4
Sex	female	male	female	male
Age (years)	27	32	25	27
Disease duration of MS (years)	14	5	7	5
EDSS score	4	3,5	3,5	4
Rate of MS progression ¹	0,3	0,7	0,5	0,8

Note: ¹ – The rate of progression in relative units was calculated as the ratio of the severity of the disease according to Kurtzke (1983) (in points) to its duration (number of years).

массы тела в сочетании с локальным парабульбарным введением МСК в количестве 10×10^6 клеток с частотой 1 раз в месяц в течение 4 мес.

Подробное нейроофтальмологическое обследование всех пациентов включало: визометрию (по таблице Д.А. Сивцева); офтальмоскопию; оценку толщины слоя нервных волокон сетчатки диска зрительного нерва (СНВС ДЗН) с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ) на приборе ОКТ «RTVue 100-2» (программы EMM-5 и RNFL 3,45); кинетическую и статическую периметрию. Кинетическую периметрию проводили по стандартной методике на приборе ПРП-60 на белый объект размером 5 мм для оценки периферических границ и поиска относительных и абсолютных скотом, а также на цветные объекты (синий, красный, зеленый) для цветовой периметрии. Статическую периметрию выполняли по стандартным методикам на компьютерном анализаторе зрения «Humphrey» («Carl Zeiss Meditec», Германия), пороговый тест 24-2. При анализе функциональных изменений учитывали основные периметрические индексы: среднее отклонение светочувствительности сетчатки (индекс MD) и паттерн стандартное отклонение (PSD).

Для оценки зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) на реверсивный шахматный паттерн использовали многофункциональный компьютерный комплекс «Нейро-МВП» («НейроСофт», Иваново), с одноканальным методом регистрации ЗВП по международной схеме 10–20, с последующим анализом показателей латентности, амплитуды и формы пика P_{100} ЗВП.

Для оценки контрастной чувствительности использовали компьютерный вариант визоконтрастометрии (ВКМ) по стандартной методике и бинокулярный низкоконтрастный тест Слоан (LCSLC – Precision Vision, laSalle, IL) с использованием E-таблиц с уровнем контраста 100%, 2,5%, 1,25%. Обследование проводили после полной коррекции остроты зрения для дали на расстоянии 2 м от глаз пациента.

Результаты

Внутривенные инфузии и парабульбарные инъекции аутологичных МСК переносились пациентами удовлетворительно, без системных побочных эффектов. Местные реакции после парабульбарных инъекций в виде умеренной болезненности и гиперемии сохранялись до 3 сут.

У пациентки № 1 из основной группы при первичном осмотре в 2008 г. острота зрения была равна 1,0/1,0; периферические поля зрения на белый объект – норма, на цвета (красный, зеленый) концентрически сужены на обоих глазах. Офтальмоскопия: побледнение височных половин ДЗН обоих глаз. ОКТ: средняя толщина СНВС – 64 микрон на правом глазу (oculus dextra – OD) и 65 микрон на левом глазу (oculus sinistra – OS), макулярный объем 5,8 мм³ и 5,6 мм³ соответственно. ВКМ: снижение контрастной чувствительности в диапазоне низких пространственных частот на 15%. Проба Слоан: 57–7–0 (количество прочитанных знаков). Проводимое пациентке лечение, включавшее внутривенные иммуноглобулины, лаквинимод, а также иммуносупрессивный препарат митоксантрон, не оказало стойкого тормозящего эффекта в отношении обострений заболевания. В 2009 г. развился двухсторонний РБН со снижением остроты зрения до 0,3 (OD) и 0,5 (OS). Повторные курсы (с интервалом в 2–3 мес) метилпредни-

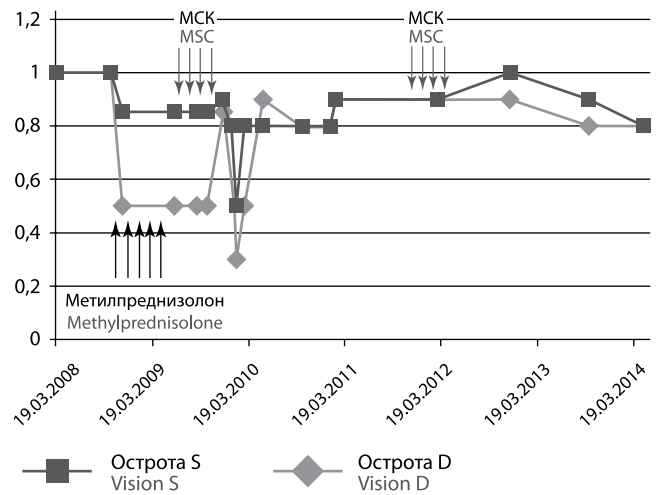


Рис. 1. Динамика изменения остроты зрения у больной № 1. Стрелки, направленные вверх, – пульс-терапия метилпреднизолоном (1000 мг № 3); стрелки, направленные вниз, – введение МСК

Fig. 1. The dynamics of evolution of visual acuity in female patient no. 1. Upward arrows denote pulse methylprednisolone therapy (1000 mg no. 3); downward arrows denote administration of MSCs

зола по 3–5 г внутривенно капельно 5 раз в течение года не привели к изменению остроты зрения.

Спустя 3 мес после последнего курса метилпреднизолона проведено лечение МСК, после которого постепенно за 6 мес острота зрения на оба глаза повысилась до 0,8 (рис. 1), средняя толщина СНВС – до 69 микрон OD (что на 5 микрон больше, чем при исследовании до терапии МСК) и 74 микрон OS (увеличение на 9 микрон), макулярный объем также увеличился до 5,79 (OD) и 6,68 мм³ (OS). ВКМ: повышение контрастной чувствительности во всех диапазонах пространственных частот на 10–20%. Проба Слоан: 59–21–0 (количество прочитанных знаков) (табл. 2–4).

В дальнейшем в течение 2 лет положительные сдвиги исследуемых параметров сохранялись с продолжающимся незначительным повышением остроты зрения до 0,9, несмотря на кратковременное, в течение 3 нед снижение остроты зрения до 0,3/0,5 на оба глаза во время обострения заболевания, которое было эффективно купировано введением метилпреднизолона в суммарной дозе 3,0 г (рис. 1). Необходимо подчеркнуть, что предыдущие (до курса МСК) многократные введения метилпреднизолона не оказывали никакого позитивного действия на зрительные функции. Восстановление чувствительности к метилпреднизолону можно объяснить иммуномодулирующими и трофическими свойствами МСК [5].

Повторный курс терапии МСК пациентке был проведен в 2012 г. До терапии МСК острота зрения – 0,9/0,9, после – 0,9/1,0 (рис. 1); проба Слоан: 55–20–10 (до терапии МСК) и 59–25–11 (6 мес спустя). Периферические поля зрения – в норме, оценка центральных полей зрения по программе Humphrey 24-2 выявила положительную динамику: до терапии МСК MD (–) 6,96 дБ справа, (–) 6,34 дБ слева; после терапии: MD (–) 5,29 дБ и MD (–) 3,81 дБ соответственно. ЗВП на шахматный паттерн также выявили улучшение проведения слева (в среднем на 9%): до лечения – латентность пика P_{100} 163 (OD) и 165 мс (OS), через 6 мес – P_{100} 161 (OD) и 145 мс (OS). Средняя толщина СНВС ДЗН существенно не изменилась (табл. 3). EDSS уменьшился

Таблица 2. Динамика основных офтальмологических и неврологических показателей у пациентов до и после терапии МСК

Метод исследования	Основная группа				Контрольная группа				
	№ 1		№ 2		№ 3		№ 4		
	до	после	до	после	до	после	до	после	
Визометрия по таблице Д.А. Сивцева (острота зрения с коррекцией)	OD	0,3	0,8	0,1	0,1	0,02	0,02	0,2	0,3
	OS	0,5	0,8	0,2	0,2	1,0	1,0	0,7	0,8
Кинетическая периметрия на белый объект (сумма 8 меридианов)	OD	548	548	455	500	360	360	550	550
	OS	550	550	460	510	550	550	550	550
Периметрия на красный цвет (сумма 8 меридианов)	OD	120	260	260	400	0	0	80	85
	OS	175	220	280	400	220	220	90	90
Статическая периметрия (MD/PSD)	OD	6,96/4,03	5,29/3,8	16,2/15	8,58/8,73	27,5/6,9	26/7,1	17,2/11,7	4,6/2,3
	OS	6,34/4,41	3,81/1,92	6,2/4,8	5,92/3,56	2,15/1,83	2,34/1,5	10,7/8,3	5,27/4,27
Визоконтрастометрия, снижение: 1 – на низких частотах, 2 – средних частотах, 3 – высоких частотах (% от среднестатистической нормы)		20	10	60	60	60	60	50	50
	OD	10	0	40	40	50	50	40	20
		40	0	95	90	100	100	80	60
		30	15	25	20	20	25	60	60
	OS	5	0	20	10	0	10	25	20
	25	0	65	40	0	0	20	20	
Низкоконтрастный тест Слоан (колич. прочитанных знаков)	OU	57–7–0	59-21-0	20-0-0	24-0-0	60-55-45	60-50-40	20-0-0	50-20-0
EDSS (баллов)		4	3,5	3,5	3	3,5	3,5	4	4

Примечание: выделены положительные изменения, которые существенно чаще и в большей степени обнаружены в основной группе.

Table 2. Dynamics of the main ophthalmologic and neurological characteristics in patients before and after MSC therapy

Research method	Main group				Control group				
	№ 1		№ 2		№ 3		№ 4		
	before	after	before	after	before	after	before	after	
Visometry according to the table Sivtsev (visual acuity with correction)	OD	0,3	0,8	0,1	0,1	0,02	0,02	0,2	0,3
	OS	0,5	0,8	0,2	0,2	1,0	1,0	0,7	0,8
Kinetic perimetry for white object (the sum of 8 meridians)	OD	548	548	455	500	360	360	550	550
	OS	550	550	460	510	550	550	550	550
Kinetic perimetry for red object (the sum of 8 meridians)	OD	120	260	260	400	0	0	80	85
	OS	175	220	280	400	220	220	90	90
Static perimetry (MD/PSD)	OD	6,96/4,03	5,29/3,8	16,2/15	8,58/8,73	27,5/6,9	26/7,1	17,2/11,7	4,6/2,3
	OS	6,34/4,41	3,81/1,92	6,2/4,8	5,92/3,56	2,15/1,83	2,34/1,5	10,7/8,3	5,27/4,27
Visocontrastometry, decrease: 1 – at low frequencies, 2 – medium frequencies, 3 – high frequencies (% of the average rate)		20	10	60	60	60	60	50	50
	OD	10	0	40	40	50	50	40	20
		40	0	95	90	100	100	80	60
		30	15	25	20	20	25	60	60
	OS	5	0	20	10	0	10	25	20
	25	0	65	40	0	0	20	20	
Low contrast Sloan letter chart (number of read signs)	OU	57–7–0	59-21-0	20-0-0	24-0-0	60-55-45	60-50-40	20-0-0	50-20-0
EDSS score		4	3,5	3,5	3	3,5	3,5	4	4

Note: Positive changes have been marked, which are more often and increasingly found in the main group.

на 0,5 балла. Указанные положительные сдвиги остроты зрения сохранялись в течение года после 2-го курса МСК. В дальнейшем отмечено незначительное постепенное снижение остроты зрения до 0,8 на оба глаза (рис. 1).

Пациент № 2 основной группы в 2007–2008 гг. перенес повторные эпизоды двустороннего РБН. В 2008 г. установлен

диагноз РППС, получал стандартную терапию без эффекта. Острота зрения при первичном осмотре в 2013 г. – 0,1 (OD) и 0,2 (OS). После терапии МСК пациент отмечал субъективное увеличение четкости и контрастности зрения, стал лучше различать цвета, появилась возможность пользоваться сотовым телефоном, хотя острота зрения существенно не изменилась: 0,1 (OD) и 0,2 (OS). Периферические поля зрения

Таблица 3. Показатели ОКТ в основной и контрольной группах до и после терапии

Показатели	Основная группа				Контрольная группа				
		№ 1		№ 2		№ 3		№ 4	
		до	после	до	после	до	после	до	после
Объем макулы (мм ³)	OD	5,88	5,79	4,86	4,7	5,84	5,6	5,9	5,9
	OS	5,69	6,68	4,29	4,78	7,0	6,9	5,9	6,0
Перипапиллярная толщина СНВС (мкм)									
Средняя толщина СНВС (мкм)	OD	71	69	77	76	54	40	65	62
	OS	64	74	87	86	83	84	64	63

Примечание: выделены положительные изменения; они чаще и в большей степени обнаружены в основной группе.

Table 3. OCT parameters in the main and control groups before and after therapy

Parameters	Main group				Control group				
		№ 1		№ 2		№ 3		№ 4	
		до	после	до	после	до	после	до	после
Macular volume (mm ³)	OD	5,88	5,79	4,86	4,7	5,84	5,6	5,9	5,9
	OS	5,69	6,68	4,29	4,78	7,0	6,9	5,9	6,0
Peripapillary thickness CHVC (μm)									
Average thickness CHVC (μm)	OD	71	69	77	76	54	40	65	62
		64	74	87	86	83	84	64	63

Note: Positive changes have been marked, which are more often and increasingly found in the main group

Таблица 4. Электрофизиологические показатели основной и контрольной групп до и после терапии

Показатели	Основная группа				Контрольная группа				
		№ 1		№ 2		№ 1		№ 2	
		до	после	до	после	до	после	до	после
Зрительные вызванные потенциалы на шахматный паттерн									
Латентность P ₁₀₀ (мс)	OD	163	161	156	149	178	170	149	135
	OS	165	145	127	125	100	122	127	130

Примечание: выделены положительные изменения, они чаще и в большей степени обнаружены в основной группе

Table 4. Electrophysiological parameters in the main and control groups before and after therapy

Parameters	Main group				Control group				
		№ 1		№ 2		№ 1		№ 2	
		before	after	before	after	before	after	before	after
Visual evoked potentials to chess pattern									
P ₁₀₀ Latency (ms)	OD	163	161	156	149	178	170	149	135
	OS	165	145	127	125	100	122	127	130

Note: Positive changes have been marked, which are more often and increasingly found in the main group

на белый объект – концентрически сужены с наличием центральной абсолютной скотомы. Тем не менее после лечения МСК отмечено повышение контрастной чувствительности в диапазоне высоких пространственных частот на 20–25%, а также уменьшение размеров центральной скотомы: до лечения МСК справа – 95 (сумма угловых градусов по 8 меридианам), после – 55, слева – 40 и 25 соответственно; отмечено также расширение поля зрения на красный цвет (оба глаза). ЗВП на реверсивный шахматный паттерн на стимулы 24' и 52' выявили увеличение латентности пика P₁₀₀ до 156 (OD) и 127 мс (OS). ОКТ: средняя толщина СНВС практически не изменилась (табл. 2). Степень тяжести по шкале EDSS уменьшилась на 0,5 балла (табл. 2–4).

Пациентка № 3 контрольной группы в 2007 г. перенесла РБН правого глаза. В 2013 г. острота зрения – 0,02 (OD) и 1,0 (OS); периферические поля зрения на белый объект: справа – центральная скотома, размеры 85 (сумма по 8 меридианам), с сужением в носовом квадранте до 25° от точки фиксации с носовой стороны; слева – норма. Офтальмоскопия: признаки частичной АЗН (побледнение ДЗН справа). ОКТ: средняя толщина СНВС 54 (OD) и 83 микрон (OS) (норма более 90 микрон), макулярный объем 5,84 мм³ и 7,0 мм³ соответственно (норма более 6,9 мм³). ВКМ: снижение контрастной чувствительности во всем диапазоне пространственных частот при исследовании правого глаза, слева – только в диапазоне низких пространствен-

ных частот на 20%. В 2008 г. установлен диагноз РРРС, прошла курс стандартной терапии (метилпреднизолон, интерферон бета-1а). Через год: средняя толщина СНВС – 40 (OD) и 84 микрон (OS), макулярный объем 5,6 мм³ и 6,9 мм³ соответственно, остальные показатели без динамики (табл. 2–4).

Пациент № 4 контрольной группы перенес повторные РБН в 2005 г.: в 2010 г. – левый глаз, в 2012 г. – правый. В 2009 г. установлен диагноз РРРС, получал стандартную терапию (метилпреднизолон, метаболическую). Обследован в 2012 г.: острота зрения – 0,2 (OD) и 0,7 (OS), периферические поля зрения на белый объект – норма с обеих сторон, скотом не выявлено. Офтальмоскопия: монотонность, побледнение ДЗН. ОКТ: средняя толщина СНВС – 65 (OD) и 64 микрон (OS), макулярный объем – 5,95 мм³ и 5,86 мм³ соответственно. ВКМ: снижение контрастной чувствительности во всем диапазоне пространственных частот на оба глаза до 50%. Через год показатели неврологического осмотра (EDSS 4,0 балла) не изменились. При нейроофтальмологическом осмотре острота зрения, контрастная чувствительность, световая чувствительность несколько повысились, однако обращает внимание отрицательная динамика при проведении метода ОКТ – средняя толщина СНВС 62/63 микрон (OD/OS), что может свидетельствовать об аксонопатии, при этом макулярный объем практически не изменился – 5,9 мм³ и 6,0 мм³ соответственно (табл. 2–4).

Обсуждение

Таким образом, в настоящем пилотном исследовании лечение РС с помощью системного и местного введения МСК пациентам основной группы улучшило зрительные функции (по объективным данным) и снизило выраженность неврологической симптоматики и степени инвалидизации на 0,5 балла (по шкале EDSS). В то же время постепенное легкое снижение остроты зрения через год после прекращения лечения МСК у первой пациентки, а также постепенное ухудшение показателей ОКТ у всех пациентов свидетельствуют о продолжающемся снижении толщины СНВ ДЗН в большинстве секторов сетчатки, несмотря на проведение лечения, что, очевидно, отражает сохранение в целом воспалительного и нейродегенеративного процессов в ЦНС. При этом снижении толщины сетчатки при лечении МСК (в основной группе) было выражено в несколько меньшей степени, чем в контрольной группе, однако данные результаты не являются окончательными ввиду ограниченной выборки пациентов. Полученные результаты подтверждают предположение о том, что трофическое и иммуномодулирующее действие МСК при неполном подавлении воспаления не может остановить текущий процесс нейродегенерации.

Патогенез РС складывается из комплекса аутоиммунных реакций, приводящих к инициации воспаления, направленного против антигенов ЦНС. В то время как обострение РС является результатом активного воспаления, в основе прогрессирования заболевания лежат процессы нейродегенерации. В настоящее время очевидно, что утрата нейронов и их отростков опосредуется многими механизмами, возникающая и продолжаясь даже при отсутствии активного воспаления, однако воспаление сохраняет свое ведущее значение в инициации и поддержании нейродегенерации [1, 2].

Современные методики МРТ и тонкие патоморфологические исследования показали, что как очаговые, так и

диффузные повреждения ЦНС при РС отмечаются уже на ранних этапах болезни. Это приводит к повреждению большого числа аксонов, включая аксоны зрительного нерва, даже при отсутствии ретробульбарного неврита [1, 4]. Терапия РС в идеале, помимо воздействия на воспалительный процесс, должна защитить оставшиеся жизнеспособные клетки, а также увеличить регенераторную способность клеток или полностью заменить поврежденные клетки [5, 6]. Большинство современных методов лечения направлены на подавление воспаления, хотя именно процессы нейрорепротекции и регенерации являются самым желаемым результатом лечения РС [5].

Одним из перспективных и патогенетически обоснованных подходов к лечению РС и других патологий нервной системы признается аутологичная трансплантация МСК. Преимуществом терапии аутологичными МСК является доступность клеточного материала, возможность многократного рекультивирования клеток в условиях *in vitro* без потери биологических свойств, отсутствие риска онкогенеза, упразднение множества этических ограничений [4]. У истоков формирования учения, подтверждающего теорию гистогенеза на основе принципа последовательной дифференцировки клеточных элементов от исходной (стволовой клетки) к дефинитивным клеточным формам, стоял выдающийся русский гистолог А.А. Максимов – автор унитарной теории кроветворения (1906–1908 гг.). В 1960-е гг. в России биологи А. Фриденштейн и И. Чертков открыли в костном мозге МСК, обладающие уникальной регенерационной способностью [7]. МСК могут способствовать восстановлению поврежденной ЦНС, вероятнее всего, посредством гуморального влияния за счет высвобождения множества трофических факторов и биологически активных веществ. Кроме того, МСК обладают также селективным иммуносупрессивным эффектом, подавляя активность аутореактивных Т-лимфоцитов, сенсibilизированных против собственного миелина. Все это определяет прочный теоретический фундамент для применения МСК в терапевтических целях [7].

В настоящее время в странах Европы, Австралии и Канаде завершается многоцентровое плацебо-контролируемое исследование III фазы МСК при РРРС, в котором предварительно получены достоверные положительные результаты [8]. Однако в этом исследовании эффекты на зрительную систему не описаны, вероятнее всего потому, что оно не предусматривало местного применения МСК при РС и АЗН.

Возможность применения МСК при РС представляется весьма перспективной, т.к. у 65–78% больных РС выявляются симптомы нарушения зрительных функций: снижение остроты зрения одного или обоих глаз, изменение полей зрения, появление скотом, нечеткость изображения предметов, потеря яркости видения, искажение цветов, нарушение контрастности [3, 4]. Одно лишь системное введение МСК может не позволить создать достаточную концентрацию клеток в зрительном нерве ввиду наличия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), поэтому дополнительное парабульбарное введение с учетом возможного частичного повреждения ГЭБ при РС, вероятно, способствовало существенному улучшению зрительных функций у первой пациентки. Положительные, но менее однозначные результаты во втором случае требуют расширения группы пациентов, получающих лечение МСК по разработанной схеме. Таким образом, наш опыт свидетельствует, что сочетанное (локальное и системное) применение

МСК у пациентов с рецидивирующе-ремиттирующим РС, осложненным РБН и АЗН, является безопасным и характеризуется хорошей переносимостью. Побочные эффекты, исключая легкие кратковременные местные реакции, обусловленные парабулбарным введением МСК, отсутствовали как непосредственно в ближайший период после введения клеточного материала, так и после завершения всего

курса лечения. Для определения клинической эффективности данного метода лечения требуются дальнейшие исследования в соответствии с требованиями доказательной медицины с участием достаточного числа пациентов.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare there is no conflict of interest.*

Список литературы

1. Бисага Г.Н., Гайкова О.Н., Онищенко Л.С. и др. Рассеянный склероз: от морфологии к патогенезу. СПб. 2015. 104 с.
2. Шмидт Т.Е., Яхно Н.Н. Рассеянный склероз. М.: МЕДпресс-информ, 2010. 269 с.
3. Коваленко А.В., Бисага Г.Н., Гайкова О.Н. и др. Патоморфологические изменения зрительного нерва и хиазмы при рассеянном склерозе. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2011; 3: 126–132.
4. Wilhelm H., Schabet M. The diagnosis and treatment of optic neuritis. Deutsches Ärzteblatt International. 2015; 112 (37): 616–625. doi: 10.3238/arztebl.2015.0616. PMID: 26396053
5. Бойко А.Н., Бойко О.В., Гусев Е.И. Выбор оптимального препарата для патогенетического лечения рассеянного склероза: современное состояние проблемы (обзор литературы). Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2014; 114 (10): 77–91.
6. Одинак М.М., Бисага Г.Н., Новицкий А.В. и др. Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток при рассеянном склерозе. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2011; 111 (2): 72–76. PMID: 21919233.
7. Фриденштейн А.Я., Лурья Е.А. Клеточные основы кроветворного микроокружения. М.: Медицина, 1980. 215 с.
8. Llüfriu S., Sepúlveda M., Blanco Y. et al. Randomized placebo-controlled phase II trial of autologous mesenchymal stem cells in multiple sclerosis. PLoS One. 2014; 9 (12): e113936. PMID: 25436769 DOI: 10.1371/journal.pone.0113936.
9. Polman C.H., Reingold S.C., Banwell B. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. Annals of neurology. 2011; 69 (2): 292–302. PMID: 21387374 DOI: 10.1002/ana.22366.
10. Kurtzke J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). Neurology. 1983; 33 (11): 1444–1452. PMID: 6685237.

References

1. Bisaga G.N., Gaykova O.N., Onishchenko L.S. et al. Rasseyanny skleroz: ot morfologii k patogenezu. [Multiple sclerosis: from morphology to pathogenesis]. Saint-Petersburg. 2015. 104 p. (In Russ.)
2. Shmidt T.E., Yakhno N.N. Rasseyanny skleroz. [Multiple sclerosis]. Moscow: MEDpress-inform, 2010. 269 p. (In Russ.)
3. Kovalenko A.V., Bisaga G.N., Gaykova O.N. et al. [Pathomorphological changes in the optic nerve and chiasma in multiple sclerosis]. Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii. 2011; 3: 126–132. (In Russ.)
4. Wilhelm H., Schabet M. The diagnosis and treatment of optic neuritis. Deutsches Ärzteblatt International. 2015; 112 (37): 616–625. doi: 10.3238/arztebl.2015.0616. Review. PMID: 26396053.
5. Boyko A.N., Boyko O.V., Gusev E.I. [The choice of the optimal preparation for the pathogenetic treatment of multiple sclerosis: the current state of the problem (review)]. Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. 2014; 114 (10): 77–91. (In Russ.)
6. Odinak M.M., Bisaga G.N., Novitskiy A.V. et al. [Transplantation of mesenchymal stem cells in multiple sclerosis]. Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. 2011; 111 (2): 72–76. PMID: 21919233. (In Russ.)
7. Fridenshteyn A.Ya., Luriya E.A. Kletochnye osnovy krovotvornogo mikrookruzheniya. [Cellular bases of the hematopoietic microenvironment]. Moscow: Meditsina., 1980. 215 p. (In Russ.)
8. Llüfriu S., Sepúlveda M., Blanco Y. et al. Randomized placebo-controlled phase II trial of autologous mesenchymal stem cells in multiple sclerosis. PLoS One. 2014; 9 (12): e113936. PMID: 25436769 DOI: 10.1371/journal.pone.0113936.
9. Polman C.H., Reingold S.C., Banwell B. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. Annals of neurology. 2011; 69 (2): 292–302. PMID: 21387374 DOI: 10.1002/ana.22366.
10. Kurtzke J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). Neurology. 1983; 33 (11): 1444–1452. PMID: 6685237.

Информация об авторах: Бисага Геннадий Николаевич – д.м.н., проф. каф. нервных болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6. E-mail: bisaga@yandex.ru;
Коваленко А.В. – к.м.н., врач-офтальмолог, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;
Исаева Г.Е. – асп. каф. офтальмологии, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;
Коваленко И.Ю. – к.м.н., науч. сотр. Научно-исследовательского испытательного центра военной медицины, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;
Новицкий А.В. – д.м.н., зам. главного врача 122-й клинической больницы ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;
Литвиненко И.В. – д.м.н., проф., нач. каф. нервных болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия.

Information about the authors: Gennadiy N. Bisaga, D. Sci (Med.), Prof., Division of Nervous System Diseases, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia; e-mail: bisaga@yandex.ru;
Anzhelika V. Kovalenko, PhD, ophthalmologist, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;
Galina E. Isaeva, PhD student, Division of Ophthalmology, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;
Igor' Yu. Kovalenko, PhD, Associate Professor, Researcher, Research Testing Center of Military Medicine, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;
Andrey V. Novitskiy, D. Sci (Med.), Deputy chief physician of the Clinical Hospital no. 122 of the Federal Medical-Biological Agency of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia;
Igor' V. Litvinenko, D. Sci (Med.), Prof., Head of the Division of Nervous System Diseases, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia.