

Осложнения, побочные эффекты и особенности клинического применения мобилизованных аутологичных гемопоэтических стволовых клеток в комплексной терапии пациентов с повреждением спинного мозга

С.Н. Авдейкин, А.С. Брюховецкий

ЗАО Клиника восстановительной интервенционной неврологии и терапии «НейроВита», Москва

Complications, side effects and clinical application peculiarities of mobilized autologous hematopoietic stem cells in complex therapy of patients with spinal cord injury

S.N. Avdeikin, A.S. Bryukhovetsky

CJSC Interventional and Restorative Neurology and Therapy Clinic «NeuroVita», Moscow

Применение клеточных технологий с целью восстановления нервной ткани и, в частности, для восполнения повреждений спинного мозга (ПСМ), находит все более широкое применение в мире. Однако пока еще не решены проблемы безопасности применения клеточных препаратов, не изучены побочные эффекты этой терапии. Целью исследования стала оценка безопасности, выявление осложнений и особенностей клинического применения мобилизованных аутогенных гемопоэтических стволовых клеток (АГСК) в комплексной терапии пациентов с ПСМ. Изучали осложнения на всех этапах лечения ПСМ: на этапе мобилизации АГСК в периферический кровоток, на этапе сепарации и клеточной терапии. В ходе работы было установлено, что общая частота осложнений достигала 75%. Проведенное исследование показало, что терапия препаратами АГСК пациентов с ПСМ требует специализированной подготовки персонала и должна проводиться только в условиях отделения реанимации многопрофильного стационара под контролем гематолога, реаниматолога и невролога, имеющих опыт применения высокотехнологичных методов лечения.

Ключевые слова: клеточная терапия, гемопоэтические стволовые клетки, осложнения клеточной трансплантации, повреждение спинного мозга, тканевая инженерия.

Проблема лечения пациентов с повреждениями спинного мозга (ПСМ) была и остается актуальной медико-социальной проблемой современной медицины, так как является одной из наиболее частых причин смерти и (или) приводит к глубокой инвалидизации пострадавших [1–5].

С каждым годом количество спинальных больных быстро растет. Об этом говорят данные ВОЗ: в 2009 г. только в США количество людей с травмой спинного мозга составляло 310 тыс. и ежегодно регистрируется еще 12 тыс. новых случаев ПСМ. В Китае в 2009 г. общее число людей с травмой спинного мозга составляло 300 тыс. В России количество пострадавших с ПСМ достигает 250 тыс. и увеличивается на 8 тыс. новых случаев ежегодно [6–14].

Несмотря на многочисленные исследования патогенеза и совершенствования методов лечения пациентов с ПСМ, большой прогресс в молекулярной биологии, фармакологии и хирургии спинальной травмы, она остается сложнейшей и неразрешимой

Stem cell therapy finds ever-widening application in restoration of neural tissue, and particularly spinal cord injuries (SCI). Still, safety problems are far from being solved and adverse effects of the therapy remain understudied. The goal of the study is to evaluate safety and to detect complications and specific characteristics of clinical application of mobilized autologous hematopoietic stem cells (AHSC) in complex therapy of SCI. The complications have been studied at all stages of SCI therapy: at the stage of AHSC mobilization to peripheral blood, separation stage and cell therapy. It was detected that overall complication rate achieved 75%. Our study showed that AHSC therapy of SCI demands specific training of the medical staff and must be administered in multi-field hospital under the supervision of hematologist, intensivist and neurologist experienced in highly technological methods of treatment.

Key words: cell-based therapy, hematopoietic stem cells, cell transplantation-related complications, spinal cord injury, tissue engineering.

проблемой для пациентов, их родственников и врачей. Подобные травмы имеют последствия не только на уровне отдельного человека и его семьи, но и затрагивают все общество и его экономику, учитывая, что пострадавшие в подавляющем большинстве — молодые работоспособные люди [3, 4, 9, 15–17].

Тяжелым финансовым бременем для самих пациентов с ПСМ и для общества в целом становится поддержание жизни и уход за ними. Так, только в США ежегодные расходы на лечение пациентов со спинальной травмой превышает 2 млрд долларов [7, 14].

Терапевтические подходы к лечению ПСМ за последние десятилетия принципиально не изменились и все они малоэффективны в восстановлении функций спинного мозга, а дальнейшая терапия таких пациентов не имеет базовых принципов. Современные методы лечения повреждений спинного мозга очень ограничены и направлены в основном на профилактику и лечение возможных осложнений [18].

e-mail: asnvg@mail.ru

Прорыв в теоретических и научных представлениях о возможности регенерации нервной ткани при ПСМ наметился в последние 3–5 лет и связан с накоплением научных фактов о возможности восстановления поврежденного спинного мозга, а также с началом клинического применения различного рода клеточных препаратов для лечения заболеваний ЦНС, в том числе и при ПСМ [4, 12, 19–23].

В 2009 г. в США 35 млн пациентов по 15 нозологиям получили лечение с применением клеточных препаратов, из них 3 млн процедур по восстановлению нервной ткани и 1 млн манипуляций по восстановлению спинного мозга. По оценке экспертов по стволовым клеткам по всему миру более 100 институтов и фармацевтических компаний заняты научными исследованиями и разработкой методов лечения ПСМ с помощью методов «регенеративной медицины» [24, 25].

Данные экспериментальных и многочисленных трансляционных клинических исследований показали, что лечение с помощью трансплантации стволовых/прогениторных клеток (СПК) дают определенную возможность значительного восстановления функций у пациентов с ПСМ в позднем периоде. Прежде всего считается, что механизм действия СПК состоит в том, что они могут непосредственно дифференцироваться в клетки нервной ткани головного или спинного мозга (теория дифференцировки). Недавно появились сообщения о слиянии СПК с нейральными клетками (теория слияния). Согласно другой версии, СПК выделяют определенные цитокины, обладающие нейротропным или нейропротекторным действием и способствуют выживанию клеток хозяина (теория кормления). Другие исследования показали, что СПК могут способствовать стимуляции или активации аксональной регенерации, выступая в роли клеточного каркаса, способствуя миелинизации, предоставляя клеточную структуру. Через эти эффекты трансплантированные клетки индуцируют пластичность поврежденного спинного мозга, способствуя удлинению аксонов и росту коллатералей, ремиелинизации, формированию синапсов и снижению дегенеративных изменений [26–30].

Быстрое внедрение клеточных препаратов в терапию ПСМ уже стало объективной реальностью. Однако массовая разработка и широкое клиническое применение клеточных технологий имеют ряд малоизученных рисков и возможных осложнений. Остается нерешенным целый ряд важных вопросов

безопасности применения собственных СПК у пациентов с ПСМ.

Поскольку данный метод терапии пациентов с ПСМ был официально разрешен регуляторными органами РФ, мы провели исследование с целью выявления осложнений и особенностей клинического применения аутогенных гемопоэтических стволовых клеток (АГСК) в комплексной терапии пациентов с ПСМ. В данной статье мы не анализируем эффективность клинического применения АГСК, так как целью исследования являлось установление осложнений, побочных эффектов и особенностей обеспечения безопасности клинического применения АГСК в комплексной терапии пациентов с ПСМ.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 237 пациентов с ПСМ (185 мужчин и 52 женщины, в возрасте от 18 до 60 лет), получавших комплексное лечение с использованием АГСК с 2003 по 2010 гг. К моменту начала терапии у всех пациентов, вошедших в исследование, давность травмы была более 1 года и не превышала трех лет. Средний возраст пациентов с ПСМ составил 32,7 у мужчин и 34 года у женщин.

Распределение больных с ПСМ по полу, возрасту и уровню ПСМ представлены в табл.1. У 237 пациентов, вошедших в исследование, были изучены особенности клинического применения и проведена оценка возможных осложнений интратекальных трансфузий мобилизованных АГСК в комплексной терапии пациентов с ПСМ. Подавляющее большинство – 78% пациентов – мужчины. 3/4 пациентов (83%) моложе 45 лет. Наибольшее число пациентов с травмой шейного отдела позвоночника – 46%. Пациенты с травмой нижнегрудного отдела позвоночника составляли 33%, верхнегрудного – 16%, поясничного отдела 5%.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы «Новые клеточные технологии в медицине» (2003) с разрешения Ученого Совета (УС) и Этического Комитета (ЭК) ГОУ ВПО Российский государственный университет им Н.И. Пирогова (РГМУ). Основными разрешительными документами при проведении этих исследований были: протокол заседания Экспертного совета по рассмотрению научных исследований в области развития клеточных технологий и внедрению их в практическое здравоохранение от 30 октября 2003 г.; протокол заседания Ученого совета Российского государственного меди-

Таблица 1. Характеристика пациентов, принявших участие в исследовании

Показатели	Пациенты группы сравнения		Пациенты контрольной группы	
	мужчины	женщины	мужчины	женщины
Возраст				
18–30 лет	90	24	19	6
31–45 лет	69	15	10	5
46 лет и старше	26	13	6	1
Уровень травмы				
Шейный	90	19	13	–
Верхнегрудной	30	8	9	3
Нижнегрудной	55	21	12	7
Поясничный	10	2	1	2
Общее количество	185	52	35	12

цинского университета от 26 января 2004 г.; протокол заседания ЭК РГМУ № 37 от 17 мая 2004 г.; регистрационное удостоверение № ФС-2005/026 от 1 июля 2005 г.; протокол заседания ЭК РГМУ № 58 от 17 апреля 2006 г.; регистрационное удостоверение № ФС-2006/151 от 01 июля 2006 г.

Работа выполнена при полной финансовой поддержке ЗАО «Клиника восстановительной интервенционной неврологии и терапии “НейроВита”».

Все пациенты подписывали информированное согласие на проведение мобилизации, сбора и введения АГСК.

После проведения предварительного общеклинического обследования все пациенты обследовались по специализированному протоколу IMITE (Швейцария). Им проводилась санация очагов хронической инфекции. Для мобилизации АГСК все пациенты получали 8 инъекций гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) «Нейпоген» подкожно, с интервалом в 12 ч в течение 4 дней. В первые три дня доза препарата составляла $2,5 \pm 0,8$ мкг/кг, в последний день доза удваивалась.

Сбор АГСК осуществляли однократно на 5 день от начала стимуляции на сепараторе крови COBE-Spectra. Средний объем собранного материала составлял 300–400 мл.

Установление субпопуляционного состава CD34⁺ клеток проводили цитофлуориметрически, с применением метода тройной метки. Счет стволовых клеток выполняли на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton-Dickinson, США).

Криоконсервирование АГСК заключалось в добавлении диметилсульфоксида к клеточной суспензии в конечной концентрации 10% и замораживании на 1 градус в минуту до -80°C или -120°C с использованием электронного программного замораживателя и хранением в жидком азоте или парах жидкого азота.

Среднее количество АГСК (CD34⁺) в одной условной дозе составило $5,8 \pm 0,8 \times 10^6$, которые вводились в составе лейкоконцентрата. Количество лейкоконцентрата составило $1,2 \pm 0,3 \times 10^9$ клеток.

В среднем временной интервал между курсами введения клеток составлял $3 \pm 1,3$ мес. При этом все трансплантации проводились в 2 этапа: осуществляли 2 субарахноидальные трансфузии АГСК в разовой дозе $5,8 \pm 0,6 \times 10^6$ с интервалом в 7 дней. В дальнейшем, трансплантации осуществлялись в течение 3–5 лет. Субарахноидальную трансплантацию клеток проводили с помощью люмбальной пункции на уровне L₂–L₃ или L₃–L₄ позвонка по стандартной методике, в положении пациента лежа на боку, под контролем Электронного Оптического Преобразователя. В год пациентам проводилось 4–6 трансфузий ($5,3 \pm 0,5$).

Развитие осложнений оценивали на всех этапах лечения: на этапе мобилизации АГСК в периферический кровоток, на этапе сепарации и клеточной терапии. На этапе мобилизации и сепарации проводилась ежедневная оценка состояния пациентов, оценивались следующие симптомы: наличие и выраженность болевого синдрома в костях, головной боли и миалгии, наличие аллергических реакций, отсутствие аппетита, озноб, повышение температуры тела, потливость, утомляемость, тошнота, рвота, другие гриппоподобные симптомы, местные реакции, кожная сыпь и инфекции. Также оценивалось

количество клеточных элементов крови. Каждому пациенту на этом этапе ежедневно выполняли УЗИ органов брюшной полости. В день мобилизации и на 3-й день после мобилизации проводилась оценка биохимических показателей крови (уровня АЛТ и АСТ, креатинина и мочевины, щелочной фосфатазы, уровня электролитов крови) и клеточного состава крови (количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов). На следующий день после мобилизации выполнялось УЗИ органов брюшной полости.

Наличие осложнений трансплантаций оценивали на 3 этапах: 1 этап — первая трансплантация АГСК, 2 этап — один год (после $5,3 \pm 0,5$ цитотрансфузий), 3 этап — два года ($10,1 \pm 1,1$ цитотрансфузий) регулярных трансплантаций АГСК. Проводилась динамическая оценка состояния пациентов, оценивались следующие симптомы: наличие и выраженность головной боли и боли в костях, сонливость, эмоциональная лабильность, головокружение, нарушение координации, артериальная гипертензия или гипотензия, повышение температуры тела, увеличение спастичности, аллергические реакции, токсические реакции, малигнизация. Также, оценивались технические и инфекционные осложнения трансплантаций: повреждение корешков конского хвоста спинного мозга, парезы черепно-мозговых нервов, эмболии, повреждение кровеносных сосудов в субарахноидальном пространстве, эпидуральная гематома, эпидурит, эпидуральный абсцесс, арахноидит, лигаментит.

У всех пациентов дважды в год изучали изменения общего анализа ликвора в динамике. Также всем пациентам через каждые 6 мес. выполняли магнитно-резонансную томографию (МРТ) поврежденного отдела спинного мозга.

Контрольную группу составили 47 пациентов (35 мужчин и 12 женщин, в возрасте от 18 до 60 лет) с ПСМ, которым проводились люмбальные пункции без интратекального введения АГСК с 2003 по 2010 гг. К моменту начала терапии у всех пациентов, вовлеченных в исследование, давность травмы была более 1 года и не превышала трех лет. Средний возраст пациентов составил: 30,1 у мужчин и 35 у женщин.

В контрольной группе после диагностических люмбальных пункций не наблюдалось усиление спастичности.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью компьютерной программы «SPSS 13,0». Для оценки достоверности полученных данных использовали параметрические (критерий Стьюдента с поправкой Бонферонни, парный критерий Стьюдента) и непараметрические (критерий χ^2 , критерий Мак-Нимара) методы. Достоверными считали данные при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты проведенного исследования показали, что частота осложнений при клиническом применении интратекальных трансфузий гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток в комплексной терапии пациентов с ПСМ может достигать 35,4% на этапе стимуляции, 27% на этапе сепарации клеток и 75% на этапе их клинического применения.

Изучение клинических и лабораторных изменений на этапе стимуляции гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток показало, что осложнения и

побочные эффекты наблюдались у 35,4%. Распределение осложнений и побочных эффектов показано на рис. 1. Наиболее частыми были боли в мышцах — 40%, далее следовали головная боль в 30% случаев, боли в костях 13% случаев, боли в спине 10,5%, астения наблюдалась у 5% пациентов.

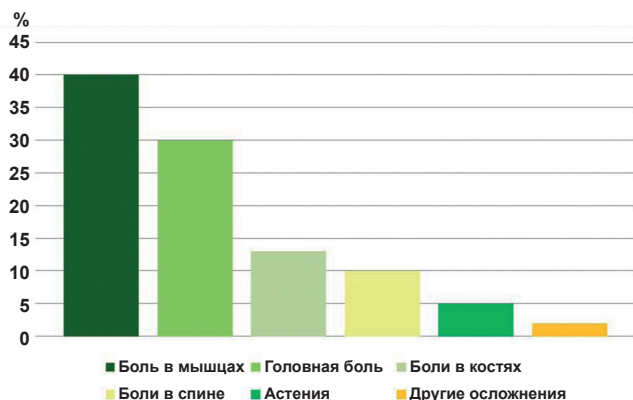


Рис. 1. Осложнения и побочные эффекты на этапе заготовки АГСК

Для купирования гриппоподобного синдрома мы использовали нестероидные противовоспалительные препараты (НПВС) — парацетамол, ацетаминофен в стандартных дозах.

В нашем исследовании использовался Г-КСФ «Нейпоген» (filgrastim) в дозировке 2,5 мкг/кг. Эта дозировка была ниже обычно используемых (5–20 мкг/кг), при этом она обеспечивала необходимое количество мобилизованных клеток. Результаты сепарации сравнимы с результатами, получаемыми при использовании более высоких доз, которые получали здоровые пациенты. Учитывая, что побочные эффекты Нейпогена дозозависимы, мы получили меньшее количество — 35,4% осложнений в нашем исследовании в сравнении с исследованиями осложнений применения Нейпогена у здоровых пациентов [30–33].

Несмотря на то, что больные с ПСМ отличаются наличием очагов хронической инфекции и напряжением иммунитета, мы не встречали в своей практике таких осложнений, как дизурия, гематурия, протеинурия, аллергические реакции, развитие васкулита, диареи, повышение уровня печеночных трансаминаз в крови и развитие остеопороза, что, по данным литературы, сопровождается введением Г-КСФ. Мы связываем это с меньшими дозами Г-КСФ, используемого у пациентов с ПСМ в нашем исследовании.

На этапе стимуляции клинически значимых органо-мегалий выявлено не было, что также объяснимо использованием более низких дозировок и сокращением сроков введения Г-КСФ.

Мы установили, что на этапе афереза количество осложнений и побочных реакций составило 27%. Распределение в процентном соотношении осложнений и побочных реакций показано на рис. 2. Покалывание и онемение в пальцах рук (симптомы цитратной интоксикации) испытывали 40% пациентов, усиление спастики было отмечено у 25% пациентов, жалобы на тошноту предъявляли 20% пациентов. У 10% пациентов, которым предварительно не был установлен центральный венозный катетер (ЦВК), были отмечены следующие осложнения: инфильтрация и гематомы в местах пункций

вен, неоднократные попытки пункций вен. Остальные жалобы носили спорадический характер: боль (головная, боль в спине и грудной клетке), озноб, гипотония и повышение АД, аллергические реакции, утомление — 5%.



Рис. 2. Осложнения и побочные эффекты клинического применения АГСК у пациентов с ПСМ на этапе афереза и сепарации

Процедура сепарации АГСК из периферического кровотока привела к развитию гемодинамических осложнений (изменений АД более чем на 30% от начальных показателей) за счет подключения экстракорпорального контура у 4 пациентов (1,7%). Все эпизоды гипотензии развивались у больных с уровнем травмы С3–С5 ($p > 0,05$). Теоретически подобное осложнение возможно за счет нарушения симпатической иннервации сосудов у пациентов с ПСМ.

В случаях, когда было невозможно провести аферез с использованием периферических вен, пациенты нуждались в постановке ЦВК. 12% пациентов был установлен ЦВК, предпочтение было отдано катетеризации подключичной или яремной вен справа. У 5 пациентов попытки катетеризации ЦВК были безуспешны, что привело к необходимости использования УЗИ контроля для постановки ЦВК в яремную или бедренную вены. В целом, 17% пациенток и 4% больных мужского пола нуждались в постановке ЦВК. Мы избегали постановки ЦВК в бедренные вены, хотя они могли быть более предпочтительными в связи с нарушением чувствительности у всех пациентов в нашем исследовании. Однако, наличие у многих наших пациентов с ПСМ тромботических осложнений вен нижних конечностей, атрофических изменений сосудов нижних конечностей, а также большой частоты инфекционных осложнений, характерную для катетеров бедренных вен (в сравнении с подключичными и яремными) привело нас к решению не использовать бедренные вены для катетеризации рутинно.

Процедура сепарации стволовых клеток из периферической крови сопровождалась развитием гипогликемии у 1 больного, обострением остеохондроза у 1 больного. В нашем исследовании клинически значимых органо-мегалий на этапе афереза и в последующие дни наблюдения выявлено не было.

Частота и характер развития клинических симптомов при трансплантации АГСК в зависимости от количества и кратности вводимых клеток приведены

в табл. 2. Наше исследование показало, что частота развития побочных эффектов и осложнений на этом этапе может достигать 75%. На этапе первых трансплантаций количество осложнений было наименьшим и составляло 63,5%. На 2 этапе — через год после начала терапии — частота осложнений была выше и составляла 72,9%. На 3-м этапе исследования — через 2 года терапии — частота осложнений была максимальной и составила 75%.

Нарушения витальных функций были отмечены у 15 пациентов (6,32%) на 1 этапе исследования. Из них нарушение сознания после трансфузии было отмечено у 3 пациентов (1,2%). Явления менингизма зарегистрированы у 8 пациентов (3,37%), которые разрешились к 7–10 суткам. Гемодинамические осложнения (изменения систолического артериального давления более чем на 30% от исходных показателей) были отмечены у 4 пациентов (1,68%). Через год после начала терапии — частота осложнений увеличилась до 72,9%. Нарушения витальных функций были отмечены у 16 пациентов (6,7%). Из них нарушение сознания после трансфузии было отмечено у 2 пациентов (0,8%). Явления менингизма были отмечены у 7 пациентов (2,95%). Гемодинамические осложнения были отмечены у 7 пациентов (2,95%). В дальнейшем — через 2 года терапии — частота осложнений была максимальной — 75%. Нарушения витальных функций были отмечены у 21 пациента (8,86%). Из них нарушение сознания после трансфузии было отмечено у 2 пациентов (0,84%). Явления менингизма были отмечены у 14 пациентов (5,9%). Гемодинамические осложнения были отмечены у 5 пациентов (2,1%). Все вышеперечисленные осложнения купировались своевременной и адекватной симптоматической терапией.

Наиболее частым осложнением, непосредственно связанным с интратекальной трансплантацией АГСК, было увеличение спастичности в миотомах, связанных с зоной повреждения. Подобная клиническая картина определялась у 46% пациентов при первой трансплантации и имела тенденцию к увеличению через год регулярного введения АГСК — 49,9% ($p > 0,05$) и через 2 года терапии АГСК 54,5% ($p > 0,05$). Вероятно, это обусловлено неспецифиче-

ским стимулирующим эффектом стволовых клеток или неспецифическим раздражением СМ клеточным препаратом. Явления повышения спастичности самостоятельно проходили без назначения центральных миорелаксирующих препаратов (баклофен, тизанидин) в течение от 3–5 дней до 2–6 мес. Однако у 5,3% пациентов мы вынуждены были применить данную группу фармакологических препаратов.

В ряде случаев после трансплантации АГСК отмечалось транзиторное повышение температуры тела до субфебрильных цифр в течение 1–3 дней (впервые возникло после первой трансплантации у 15% пациентов, увеличилось после года регулярного введения АГСК до 19% ($p > 0,05$) и через 2 года составляло 18,8% ($p > 0,05$)), которое также самостоятельно проходило без проведения специфической терапии.

У пациентов в 11% случаев при первой трансплантации АГСК, в 14,9% случаев через год и 12,2% через 2 года регулярных трансплантаций развивались постпункционные головные боли. Их особенностью было возникновение на первые-вторые сутки после трансплантации, тогда как обычно постпункционные головные боли возникают на 3–5 сут. после люмбальной пункции. Стандартное лечение постпункционных головных болей (кофеин бензоат натрия, обильный прием жидкости, инфузия раствора Рингера или 0,9% раствора хлорида натрия, горизонтальное положение в кровати с опущенным головным концом) приводило к полному исчезновению симптоматики на 3–4 сут. Однако у одного пациента в связи с упорными головными болями потребовалась «пломбировка» эпидурального пространства аутокровью. В настоящее время с целью снижения количества постпункционных головных болей мы используем иглы малого диаметра (25–27 G) [12].

В момент люмбальной пункции у части больных отметили нарастание спастики в нижних конечностях, что расценивалось как двигательный эквивалент парестезии при соприкосновении иглы со структурами корешка и конского хвоста. В данной ситуации считали необходимым подтягивание иглы «на себя» и изменение ее направления.

Таблица 2. Динамика развитие клинических симптомов осложнений и побочных эффектов у пациентов с ПСМ

Клинические симптомы	Регистрация симптомов на этапах исследования			Пациенты группы контроля
	1 этап	2 этап	3 этап	
Усиление спастичности	46%	49,9%	54,5%	0
Повышение температуры	15%	19%	18,8%	0
Постпункционная головная боль	11%	14,9%	12,2%	14,9%
Артериальная гипертензия	10%	8,1%	14,5%	0
Нарушение координации	2,3%	1,3%	0	0
Головокружение	2%	3,4%	0	4,2%
Сонливость	2,1%	1,7%	0	0
Эмоциональная лабильность	1,6%	1,7%	0	0
Нарушение сознания	1,2%	0,8%	0,8%	0
Менингизм	3,7%	2,95%	0,8%	0
Артериальная гипотония	1,68%	2,95%	5,9%	0
Общий % больных с осложнениями	63,5%	72,9%	75%	19,1%

У одного пациента с ПСМ на уровне С4-С5 на следующий день после седьмой трансплантации АГСК отмечено преходящее нарушение мозгового кровообращения в бассейне средней мозговой артерии. Однако полностью связать данное осложнение с трансплантацией АГСК не представляется возможным, так как у пациента и ранее отмечались проявления синдрома вегетативной гиперрефлексии на растяжение мочевого пузыря с артериальной гипертензией до 180/110 мм. рт. ст. После проведения комплекса интенсивной терапии в отделении реанимации и стабилизации состояния, больной на следующий день переведен в неврологическое отделение в удовлетворительном состоянии.

Однако, кроме быстро проявляющихся клинических признаков осложнений, трансплантация АГСК может индуцировать отсроченные процессы, первыми признаками которых станут лабораторные изменения или данные инструментального обследования.

При анализе спинномозговой жидкости после трансплантации стволовых клеток отмечено увеличение содержания общего белка в ликворе ($0,52 \pm 0,18$ г/л), альбумина ($0,37 \pm 0,15$) и увеличение числа клеток до $17,4 \pm 4,21 \times 10^9$ /л за счет лимфоцитов (в 100% случаев). Описанные изменения клинического анализа ликвора полностью разрешаются к моменту следующей госпитализации (через 3 мес.).

Данным фактом можно объяснить отсутствие эффекта накопления отрицательных клинических изменений, связанных с введением клеток, в первую очередь спастичности. С другой стороны, быстрая санация ликвора приводит к элиминации стволовых клеток из спинномозговой жидкости, что обуславливает сроки проведения следующей трансплантации.

Изучение последствий трансплантации с помощью проведения МРТ-исследования зоны повреждения через 2, 3, 5 лет с момента начала трансплантаций, не выявило образования опухолей или новых кистозных полостей, появления очагов оссификации или нарастания фиброзно-рубцового ПСМ как в области травмы, так и за ее пределами. Мы также не отметили увеличения (регенерации) мозгового вещества в месте ПСМ.

Обсуждение

В настоящее время осложнения и особенности клинического применения АГСК у пациентов с ПСМ мало изучены.

Таким образом, анализ литературы и собственных данных проведения более 2518 интратекальных трансплантаций АГСК у 237 пациентов позволил разделить осложнения от их трансплантации по времени возникновения на:

1. Ранние осложнения, обусловленные, в свою очередь:

- методикой заготовки АГСК;
- методикой сепарации АГСК;
- собственно трансплантацией АГСК;
- выполнением люмбальной пункции (технические и инфекционные).

2. Поздние осложнения, обусловленные взаимодействием трансплантата и организма.

Как показало проведенное нами исследование, осложнения и побочные эффекты от применения аутологических клеточных препаратов в комплексной терапии ПСМ встречались на всех этапах лечения с применением аутологенных клеточных систем и их

количество сравнимо с таковыми от использования фармакологических препаратов.

Мы выявили, что осложнения у наших пациентов развивались как в связи с особенностями патогенеза основного заболевания, так и вследствие проводившихся медицинских мероприятий. Клиническое значение медицинских осложнений определялось тем, что нередко они развивались остро и сами по себе могли представлять угрозу усугубления тяжести утраты трудоспособности, инвалидности или даже наступления смерти больного.

Мы установили, что на этапе стимуляции Г-КСФ количество осложнений и побочных эффектов было 35,4%. При сравнении пациентов на данном этапе исследования с данными литературы выявлены следующие закономерности. В нашем исследовании низкий процент осложнений по сравнению с данными других исследований можно объяснить тем, что побочные эффекты Г-КСФ дозозависимы. Учитывая, что использовались меньшие дозировки и длительность применения Г-КСФ, мы не получили таких характерных осложнений как органомегалии, печеночная и почечная недостаточность, сердечно-сосудистые осложнения и изменения лабораторных показателей крови: повышение содержания лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, и γ -глутамилтрансферазы; гиперурикемия, гипогликемия; протеинурия, гематурия.

Учитывая возможный риск, связанный с тяжелым лейкоцитозом, во время введения филграстима следует регулярно контролировать число лейкоцитов: если оно превысит $10\,000$ клеток/ мм^3 , препарат следует отменить. Во время введения филграстима необходимо регулярно контролировать размеры печени и селезенки (пальпация живота, УЗИ). Уменьшение дозы филграстима в проведенных исследованиях замедляло или останавливало увеличение печени и селезенки, а так же клинические и лабораторные проявления побочных эффектов и осложнений [30–33].

На этапе сепарации процент осложнений был самым низким — 27% случаев. Их наибольшее количество было вызвано цитратной интоксикацией в результате подключения контура для сепарации и соответствовало таковым в проведенных исследованиях на здоровых людях. Процент гемодинамических осложнений был невысоким (1,7%) и отмечался только у пациентов с высоким уровнем травмы (С3-С5). Однако эти осложнения могут представлять реальную угрозу жизни пациента в случае несвоевременной диагностики и коррекции.

Обсуждая проблемы клеточной трансплантации при ПСМ, можно сделать вывод что, несмотря на то, что были использованы собственные (аутогенные) клетки, мы столкнулись с высокой частотой побочных эффектов и осложнений — 75%.

Нарушения витальных функций были характерными для этого этапа исследования. Это нарушение сознания после трансфузии, явления менингизма и гемодинамические осложнения (изменения систолического артериального давления более чем на 30% от исходных показателей). Также характерным было увеличение количества таковых осложнений через год и через 2 года от начала терапии.

При сравнении пациентов основной группы, которым проводилось интратекальное введение АГСК, выявлено большее количество осложнений, чем у пациентов контрольной группы, которым прово-

дились люмбальные пункции без введения АГСК ($p > 0,05$).

Осложнения интратекальной трансплантации в подавляющем большинстве проявлялись в виде усиления спастичности. Мы считаем, что это вызвано агрессивным воздействием клеточного препарата на ЦНС, раздражением оболочек и структур мозга. Несмотря на то, что использованный клеточный препарат являлся аутогенным, введение его производилось в другую среду, что вызывало раздражение структур ЦНС.

Осложнения, связанные с техническими погрешностями люмбальной пункции, отличались от таковых у здоровых пациентов тем, что возникновение постпункционных головных болей приходилось на 1–2 дни. В нашем исследовании ни одного случая эпидуральной гематомы, эпидурита, эпидурального абсцесса или арахноидита от применения АГСК выявлено не было.

Отличия между группами в виде количества вводимых клеток и длительности трансплантации статистически не достоверны. Подобные факты свидетельствуют, в первую очередь, о хорошей переносимости трансплантации, ее безопасности в

случае соответствующего медицинского сопровождения. Отсутствие выявленных серьезных дозозависимых отрицательных изменений, позволит увеличить количество одномоментно вводимых клеток, что, по данным литературы, в эксперименте улучшает результаты восстановления спинного мозга.

Заключение

Частота побочных эффектов и осложнений, выявленная нами при клиническом применении АГСК в комплексной терапии пациентов с ПСМ, достаточно высока (до 75%) на всех этапах исследования. Исходя из выше сказанного, можно сделать вывод, что стимуляция, сепарация и терапия препаратами АГСК у пациентов с ПСМ должна проводиться только под контролем гематолога, реаниматолога и невролога, имеющих опыт применения таких «лекарственных средств», в условиях многопрофильного специализированного стационара. Недопустимо использование интратекального применения АГСК в амбулаторных условиях. Изучение особенностей и возможных осложнений клинического применения АГСК необходимо продолжить, чтобы избежать необоснованных рисков применения клеточных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

- Murray K.C., Stephens M.J., Ballou E.W. et al. Motoneuron excitability and muscle spasms are regulated by 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C} receptor activity. *J.N. Physiol.* 2011; 105(2): 731–48.
- Dorstyn D., Mathias J., Denson L. Efficacy of cognitive behavior therapy for the management of psychological outcomes following spinal cord injury: A meta-analysis. *J. Health Psychol.* 2011; 16: 374–91.
- Kostovski E., Iversen P.O., Hjeltnes N. Complications of chronic spinal cord injury. *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* 2010; 130(12): 1242–5.
- Брюховецкий А.С. Травма спинного мозга: клеточные технологии в лечении и реабилитации. Москва: Практическая медицина; 2010.
- Krause J.S., Reed K.S., McArdle J.J. A structural analysis of health outcomes after spinal cord injury. *J. Spinal Cord Med.* 2010; 33(1): 22–32.
- Ning G.Z., Yu T.Q., Feng S.Q. et al. Epidemiology of traumatic spinal cord injury in Tianjin, China. *Spinal Cord* 2011; 49, 386–90.
- Sekhon L.H., Fehlings M.G. Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. *Spine* 2001; 26(24 Suppl): S2–12.
- DeVivo M.J., Vogel L.C. Epidemiology of spinal cord injury in children and adolescents. *J Spinal Cord Med.* 2004; 27 Suppl 1: S4–10.
- Ackery A., Tator C., Krassioukov A. A global perspective on spinal cord injury epidemiology. *Neurotrauma* 2004; 21(10): 1355–70.
- Качесов В.А. Основы интенсивной самореабилитации. Москва: Издательская группа «БДЦ-ПРЕСС»; 2007.
- Krause J.S., Saunders L.L., DeVivo M.J. Income and risk of mortality after spinal cord injury. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2011; 92(3): 339–45.
- Mezey E. Bone marrow-derived stem cells in neurological diseases: stones or masons? *J. Regen. Med.* 2007; 2(1), 37–49.
- Осадчих А.И., Пузин С.Н., Лаврова Д.В. и др. Проблемы инвалидности в России. Состояние и перспективы. М.: Медицина; 2002.
- NSCISC (National Spinal Cord Injury Statistical Center). Facts and Figures at a Glance. 2010; <http://www.spinalcord.uab.edu>.
- Groot S., Post M.W., Postma K. et al. Prospective analysis of body mass index during and up to 5 years after discharge from inpatient spinal cord injury rehabilitation. *J. Rehabil. Med.* 2010; 42(10): 922–8.
- Groot S., van der Woude L.H., Niezen A. et al. Evaluation of the physical activity scale for individuals with physical disabilities in people with spinal cord injury. *Spinal Cord* 2010; 48(7): 542–7.
- Divani A.A., Hussain M.S., Magal E. et al. The use of stem cells' hematopoietic stimulating factors therapy following spinal cord injury. *Ann. Biomed. Eng.* 2007; 35(10): 1647–56.
- Ronsyn M.W., Berneman Z.N., van Tendeloo V.F. et al. Can cell

- therapy heal a spinal cord injury? *Spinal Cord* 2008; 46(8): 532–9.
- Li S.C., Tachiki L.M., Luo J. et al. A biological global positioning system: considerations for tracking stem cell behaviors in the whole body. *Stem Cell Rev. Rep.* 2010; 6: 317–33.
- Sigurdsson O.E., Perreault M.C., Egeland T. et al. Adult human hematopoietic stem cells produce neurons efficiently in the regenerating chicken embryo spinal cord. *PNAS USA* 2005; 102(14): 5227–32.
- Laar J.M., Tyndall A. Adult stem cells in the treatment of autoimmune diseases. *Rheumatology* 2006; 45: 1187–93.
- Sykova E., Jendelova P. Migration, fate and in vivo imaging of adult stem cells in the CNS. *Cell Death Differ.* 2007; 14, 1336–42.
- Shichinohe H., Kuroda S., Tsuji S. et al. Bone marrow stromal cells promote neurite extension in organotypic spinal cord slice: significance for cell transplantation therapy. *Neurorehabil. Neural Repair.* 2008; 22(5): 447–57.
- Зорин В.П., Черкасов В.Р., Зорина А.И. и др. Характеристика мирового рынка клеточных технологий. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2010; 5(3): 96–115.
- Young R.A. Control of the embryonic stem cell state. *Cell* 2011; 144(6): 940–54.
- Kim B.G., Hwang D.H., Lee S.I. et al. Stem cell-based cell therapy for spinal cord injury. *J. Cell Transplant.* 2007; 16(4): 355–64.
- Someya Y., Koda M., Dezawa M. et al. Reduction of cystic cavity, promotion of axonal regeneration and sparing, and functional recovery with transplanted bone marrow stromal cell-derived Schwann cells after contusion injury to the adult rat spinal cord. *J. Neurosurg. Spine.* 2008; 9(6): 600–10.
- Ruff C.A., Wilcox J.T., Fehlings M.G. Cell-based transplantation strategies to promote plasticity following spinal cord injury. *Exp. Neurol.* 2011. Feb 17. [Epub ahead of print].
- Ruff C.A., Fehlings M.G. Neural stem cells in regenerative medicine: bridging the gap. *Panminerva Med.* 2010; 52(2): 125–47.
- Yamaguchi S., Kuroda S., Kobayashi H. et al. The effects of neuronal induction on gene expression profile in bone marrow stromal cells (BMSC) — a preliminary study using microarray analysis. *Brain Research* 2006; 1087(1): 15–27.
- Pulsipher M.A., Chitphakdithai P., Miller J.P. et al. Adverse events among 2408 unrelated donors of peripheral blood stem cells: results of a prospective trial from the National Marrow Donor Program. *Blood* 2009; 113(15): 3604–11.
- Cavallaro A.M., Lilleby K., Majolino I. et al. Three to six year follow-up of normal donors who received recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *J. Bone Marrow Transpl.* 2000; 25(1): 85–9.
- Hölg K., Kramer M., Kroschinsky F. et al. Safety and efficacy of hematopoietic stem cell collection from mobilized peripheral blood in unrelated volunteers: 12 years of single-center experience in 3928 donors. *Blood* 2009; 114(18): 3757–63.

Поступила 08.06.2011