

Современное состояние и перспективы клеточной терапии детского церебрального паралича

А.С. Григорян

Институт Стволовых Клеток Человека, Москва

Current situation and prospects for cell therapy of the cerebral palsy

A.S. Grigoryan

Human Stem Cell Institute, Moscow

Детский церебральный паралич (ДЦП) — патологическое состояние, вызванное необратимыми повреждениями или нарушениями эмбриогенеза головного мозга. В настоящее время не существует эффективной терапии пациентов с ДЦП, в связи с чем исследователи и клиницисты вынуждены вести поиск альтернативных методов лечения. Клеточная терапия при помощи различных типов стволовых клеток — перспективный, однако на сегодняшний день слабо изученный подход к коррекции состояния больных. В обзоре обсуждаются возможные направления клеточной терапии, которые могли бы применяться по поводу ДЦП в будущем.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, стволовые клетки.

Cerebral palsy is pathological condition caused by the irreversible damage or dysembryogenesis of the brain. Today there is no effective therapy of the patients suffering from cerebral palsy, and the researchers and clinicians have to search the alternative methods of treatment. Cell therapy with the use of different types of stem cells is the promising yet not well-examined approach to the correction of the status of patients. In this review the possible future methods of stem cell therapy of cerebral palsy are discussed.

Key words: cerebral palsy, stem cells.

Понятие «детский церебральный паралич» (ДЦП) объединяет ряд различных по клиническим проявлениям не прогрессирующих синдромов, возникающих в результате недоразвития головного мозга либо его повреждения на различных этапах эмбриогенеза. В целом, ДЦП характеризуется неспособностью пациентов сохранять позу тела и выполнять произвольные движения, спастикой мышц; обычно сопровождается серьезными нарушениями когнитивных функций и нередко — эпилепсией [1]. Распространенность ДЦП в развитых странах варьирует от 2,12 до 2,45 случаев на 1000 новорожденных [1, 2].

ДЦП традиционного рассматривается клиницистами как полиэтиологическое заболевание: его причинами могут быть инфекционные, соматические и эндокринные болезни матери, токсикозы беременности, патология пуповины и плаценты, аномалии родовой деятельности, акушерские операции, резус-конфликт матери и плода, аутоиммунные процессы и т.д. Непосредственной причиной ДЦП всегда является гипоксия плода и, как следствие, некроз определенных групп нейронов, недоразвитие структур мозга и проводящих путей, отвечающих за формирование рефлекторных механизмов и поддержание равновесия тела. Это приводит к нарушению распределения тонуса мышц и развитию патологических двигательных реакций. Степень поражения различных групп мышц и тяжесть заболевания зависят от локализации и степени поражения головного мозга.

Поскольку патоморфологические варианты повреждений ствола мозга при ДЦП крайне разнообразны (например, фокальный либо мультифокальный некроз и перивентрикулярная лейкомалация нервных клеток зачастую приводят к образованию множественных кист и гидроцефалии, что ведет к тяжелым формам ДЦП нередко в сочетании с парциальной эпилепсией, умственной отсталостью и т.д.),

формы заболевания разделяют по доминирующей симптоматике: спастическая диплегия, гемиплегия, гемипаретическая форма ДЦП, гиперкинетическая форма ДЦП и атонически-астатическая (мозжечковая) форма. По степени тяжести различают тяжелые нарушения (ребенок не может сохранять равновесие стоя, практически не развиваются навыки самообслуживания), нарушения средней степени тяжести (возможность самостоятельного передвижения ограничена, навыки самообслуживания не вполне развиты) и легкие нарушения (на фоне в целом нормального состояния могут наблюдаться патологические позы, нарушения походки, насильственные движения и т.д.) [3].

Стандартные методы лечения ДЦП включают массаж, лечебную физкультуру, физиотерапию, электрорефлексотерапию, а также медикаментозную терапию с помощью препаратов, направленных на улучшение трофики нервной ткани (кортексин, актовегин, нейромультивит, глиатилин, лецитин и др.). Также одним из методов лечения ДЦП являются инъекции нейротоксина ботулина типа А (ботокс) непосредственно в спастичные мышцы, что ведет к их временному расслаблению. Несмотря на весьма широкий спектр методов патогенетической и симптоматической терапии ДЦП, клиницисты вынуждены признать, что на сегодняшний день эффективного лечения для пациентов, страдающих от данной патологии, не существует, и улучшения, которых можно добиться с применением традиционных методов лечения, в большинстве случаев незначительны [4]. Клеточная терапия при помощи различных типов стволовых клеток (СК), являющаяся перспективным подходом к терапии ряда нейродегенеративных заболеваний [5], возможно, в будущем станет решением проблемы детского церебрального паралича.

e-mail: cell_therapy@mail.ru

Мировой опыт: типы СК для лечения ДЦП

Говоря о клеточной терапии ДЦП, можно, исходя из накопленных на сегодняшний день данных относительно лечения нейродегенеративных заболеваний, последствий травматических повреждений ЦНС и инсультов, предположить три перспективных типа СК:

- нейральные стволовые клетки (НСК) [5–8];
- мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК), полученные из костного мозга или жировой ткани [9–11];
- гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) костного мозга или пуповинной крови [12–17].

Несмотря на то, что к настоящему времени было разработано несколько различных моделей ДЦП на животных, ни одна из них на сегодняшний день не признана вполне адекватной для проведения доклинических испытаний [18–20], что значительно затрудняет прогресс исследований. Авторы наиболее полного на сегодняшний день обзора моделей ДЦП на животных [21] указывают на следующие важные моменты:

- ДЦП в большинстве случаев является следствием не только перинатальной гипоксии, как считалось ранее, но также и внутриутробных и перинатальных инфекций, а потому оба эти фактора должны быть учтены при моделировании заболевания.

- При моделировании повреждения белого вещества мозга, возникающего вследствие гипоксии и (или) инфекционного процесса, на разных модельных объектах показано, что паттерн повреждения мозговых структур, наиболее точно соответствующий таковому у человека, наблюдается не у грызунов (мышей и крыс), а у кроликов, кошек, собак и овец. Это связано с различными соотношениями серого и белого вещества в мозге разных животных. Однако с точки зрения цены и простоты содержания крысы являются более предпочтительными модельными объектами.

- Наиболее адекватным из существующих на сегодняшний день экспериментальным методом моделирования ДЦП на крысах является комбинация гипоксии (помещение животных 1–7-дневного возраста на 2 ч в среду с 6–8% содержанием кислорода) и иммунного повреждения, спровоцированного бактериальными продуктами (липополисахарид).

На сегодняшний день в мире проводятся единичные клинические исследования применения в терапии ДЦП аллогенных ГСК, полученных из донорских образцов пуповинной крови, а также аутогенных ГСК, выделенных из аспиратов костного мозга.

Первые попытки применения в терапии ДЦП гемопоэтических клеток пуповинной крови были предприняты в 2004 г. В пилотном клиническом исследовании приняли участие 8 пациентов в возрасте от 3 до 12 лет [22]. Авторы данной работы предположили, что аллогенные ГСК смогут оказать положительные эффекты на состояние больных благодаря следующим механизмам:

- стимуляции формирования кровеносных сосудов в мозге и улучшению трофики нервной ткани [23, 24];
- синтезу различных ростовых факторов, стимулирующих нейрогенез [24];
- возможной дифференцировке ГСК в нейроны и глиальные клетки при миграции в мозг [25, 26];

Аллогенные CD34⁺/CD133⁺ клетки, очищенные с помощью магнитно-активированного клеточного сортирования (Clini-MACS) и размноженные в культуре в течение 3 нед., были трансплантированы пациентам внутримышечно в количестве $1,5 \times 10^6$ кл/кг. Период наблюдения за пациентами составил всего 6 мес. Авторы сообщают о весьма обнадеживающих результатах: у пяти детей (62%) наблюдалась значительная положительная динамика в восстановлении моторных (способность сохранять позу тела при стоянии и сидении, совершать произвольные движения и проч.) и когнитивных (понимание обращенной речи, речь, мышление и проч.) функций, у двух (26%) — положительная динамика средней выраженности, и только у одного пациента (12%) не было отмечено улучшения состояния. Оценку состояния больных проводили по опроснику, включавшему 78 вопросов, касающихся реакции на трансплантацию, изменения моторных, когнитивных, социальных навыков и способности к самообслуживанию. Ни у одного пациента не было отмечено реакций отторжения трансплантата и других нежелательных побочных явлений проведенной процедуры.

Авторы работы также сообщают, что у одного из детей, до проведения трансплантации ГСК не способного говорить, практически полностью восстановилась речь, а у другого ребенка, ослепшего в результате атрофии зрительного нерва, через 6 мес. после трансплантации зрение восстановилось настолько, что он смог без посторонней помощи ориентироваться в пространстве.

По данным Национальных Институтов Здоровья США, в начале 2010 г. в мире было начато первое расширенное клиническое испытание применения аутогенных ГСК пуповинной крови в терапии больных ДЦП (идентификатор исследования на сайте www.ClinicalTrials.gov: NCT01072370), проводимое специалистами из Medical College of Georgia (США). Терапия пациентов состоит в однократной внутривенной инфузии ГСК в дозе 2×10^7 кл/кг. Первые две фазы этого исследования, направленные на оценку безопасности и эффективности метода, завершатся в 2013 г. Под руководством ведущего исследователя данного клинического испытания доктора Д.Е. Кэрролла до настоящего времени проводились, главным образом, доклинические работы по применению при экспериментально индуцированном гипоксическом повреждении головного мозга у крыс различных типов СК, в частности, ГСК и ММСК, полученных из костного мозга человека [27–30]. Авторами указанных работ были выполнены как интрацеребральные, так и внутривенные трансплантации СК и показано, что внутривенные трансплантации оказывают более выраженные положительные эффекты на развитие посттравматических процессов в головном мозге.

Помимо этого, в Мексике завершилась первая фаза клинических испытаний интратекального введения аутологичных ГСК костномозгового происхождения пациентам с ДЦП (идентификатор исследования на сайте ClinicalTrials.gov: NCT01019733), а весной 2011 г. в Корее завершилась первая фаза клинических испытаний комбинированной терапии больных ДЦП эритропоэтином и аллогенными ГСК, полученными из пуповинной крови (идентификатор исследования на сайте ClinicalTrials.gov: NCT01193660). Также в июле 2011 г. в Иране было объявлено о начале первой фазы клинических испытаний, призванных

выявить возможные негативные побочные эффекты применения аутогенных CD133⁺-ГСК в терапии пациентов с ДЦП (идентификатор исследования на сайте ClinicalTrials.gov: NCT01404663).

В Европе терапия ДЦП с помощью аутогенных ГСК костного мозга применялась до 2011 г. в одной из частных клиник, специализирующейся на «регенеративной медицине» (XCell-Center, Дюссельдорф, Германия). Методика состояла в том, что суспензия аутогенных СК, выделенных из аспиринов костного мозга при помощи центрифугирования в градиенте плотности перколл, трансплантировалась пациентам с ДЦП в спинномозговую жидкость. Специалисты клиники сообщают, что с 2007 г. по данной методике прошло 100 пациентов: у 70% из них наблюдалось уменьшение спастичности мышц, а также существенные улучшения координационных и моторных функций, у 56% улучшилась артикуляция речи, число эпилептических приступов снизилось у 43% обследованных. Тем не менее в 2011 г. клиника была закрыта по причине гибели одного из пациентов (был ли это пациент, страдающий ДЦП или каким-то другим заболеванием, не уточняется, однако сообщается, что это был 18-месячный ребенок, получивший инъекцию СК в спинномозговую жидкость), в связи с чем врачи обвинили в «применении недостаточно изученных медицинских технологий» [31].

Терапия пациентов, страдающих ДЦП, при помощи ГСК на данный момент проводится только в Китае в таких центрах, как Tiantan Puhua Stem Cell Center, а о ее результатах можно узнать исключительно из новостных сообщений научно-популярной прессы, что не позволяет составить объективного представления о данном направлении, поскольку зачастую не указывается даже тканевой источник использованных ГСК.

Клеточная терапия ДЦП в России

Сегодня в России, как и в мире, применяется главным образом клеточная терапия ДЦП при помощи ГСК, полученных из различных источников. Наиболее исчерпывающее клиническое исследование трансплантации аутогенных ГСК, полученных из костного мозга, было проведено в Новосибирском Центре иммунотерапии и клеточных технологий [32]. Клеточная терапия была проведена в общей сложности 125 больным ДЦП. Суспензия клеток, полученная по стандартной методике из аспиринов костного мозга, вводилась в субарахноидальное пространство. Авторы работы сообщают, что очевидные неврологические улучшения наблюдались у 85% пациентов.

Для объективации результатов работы специалисты Центра провели ограниченное контролируемое исследование, в которое было включено 30 пациентов в возрасте от 1,5 до 7 лет. Активность 10 основных психомоторных функций (держание головы, держание игрушки в руке, поворачивание с живота на спину, ползание на животе, сидение, стояние, хождение, слежение глазами за игрушкой, понимание обращенной речи, речь) оценивали спустя 12 мес. после трансплантации. Качество выполнения функции оценивалось по 10-балльной шкале. Выполнение функции считалось неполным в случае, если пациент делал попытки ее выполнения, но самостоятельно не достигал желаемого результата.

В результате проведенного лечения уровень функциональной активности в целевой группе примерно в 2 раза превысил таковой в группе контроля. Почти у 90% пролеченных пациентов, исходно имевших от 0 до 5 баллов по всем указанным психомоторным функциям, после трансплантации наблюдалось улучшение данных функций и их самостоятельное выполнение. Интересное наблюдение было сделано авторами работы и по поводу влияния трансплантации ГСК на эпилептиформную активность головного мозга. Исходно по данным ЭЭГ эпилептиформная активность была отмечена у 4 пациентов. После трансплантации у 3 пациентов произошло существенное урежение эпилептических приступов с исчезновением эпилептиформной активности на ЭЭГ. За последующий период наблюдения, составивший для части пациентов более 3 лет, случаев реверсии клинического эффекта и отдаленных осложнений клеточной терапии зафиксировано не было.

Следует отметить, что исследование, проведенное отечественными клиницистами, является на сегодняшний день наиболее исчерпывающим в области терапии ДЦП при помощи ГСК не только в России, но и в мире. Что касается опыта применения других типов СК для лечения пациентов с ДЦП в России, то доступная информация о единичных случаях трансплантации ГСК пуповинной крови, а также ММСК, выделенных из костного мозга и жировой ткани, ограничена лишь новостными сообщениями в прессе.

Заключение

Клеточная терапия ДЦП на сегодняшний день — перспективная методика, находящаяся на ранних этапах разработки. Тем не менее, отсутствие адекватных моделей на животных приводит к тому, что механизмы, лежащие в основе воздействия различных типов СК на организм больного, остаются неизученными. Фактически, относительно клеточной терапии ДЦП мы на данный момент можем располагать только гипотезами о ее механизмах, а также эмпирическими данными, полученными отдельными группами исследователей. Тем не менее, разработка новых моделей и проведение исследований даёт надежду на изменение этой ситуации.

Несмотря на то, что на данный момент известно только о положительных эффектах различных типов СК на состояние больных ДЦП, нельзя с уверенностью утверждать, что негативные примеры применения клеточной терапии с помощью тех или иных стволовых клеток отсутствуют, поскольку данное направление уже сейчас сильно коммерциализовано. По всей видимости, это связано с неизлечимостью заболевания. В отсутствие эффективных методов лечения следует ожидать, что новый метод, в особенности с применением СК, положительно зарекомендовавших себя при лечении других патологий ЦНС, начнет довольно быстро применяться на коммерческой основе. Существенную роль в данном случае играет психология родителей пациентов, страдающих ДЦП, которые поставлены в ситуацию отсутствия выбора.

Следует ожидать, что в случае успеха клинических испытаний в ближайшие годы клеточная терапия ДЦП с помощью ГСК получит широкое распространение. В целом, основываясь на доступных на сегодняшний день данных, следует заключить, что действительно наиболее перспективной видится

клеточная терапия ДЦП при помощи ауто- либо аллогенных ГСК, полученных из различных источников. Крайне важен вопрос о способе трансплантации — в различных доклинических и клинических исследованиях можно встретить как внутривенное и подкожное введение, так и инъекции в спинномозговую жидкость и даже интрацеребрально. Сложно сказать, какой из методов наиболее предпочтителен с точки зрения клинического эффекта, однако интрацеребральное и интратекальное введение могут оказаться слишком травматичными, чтобы войти в широкую клиническую практику [31]. Наиболее адекватным видится внутривенное введение клеток, поскольку оно наименее травматично и обеспечива-

ет беспрепятственную миграцию СК в организме с током крови.

На вопрос о перспективности других типов СК при ДЦП, ответить, основываясь на существующих данных, не представляется возможным. Тем не менее, с точки зрения реальных клинической практики для исследований наиболее привлекательным клеточным типом помимо ГСК являются ММСК костного мозга и жировой ткани, поскольку в случае НСК возникает проблема получения донорского материала. На сегодняшний день необходимо проведение ограниченных клинических исследований применения ГСК и ММСК при ДЦП, а также сравнительная оценка эффективности этих двух типов СК.

ЛИТЕРАТУРА:

- Pharoah P.O. Epidemiology of cerebral palsy: a review. *J. Royal Society Med.* 1981; 74(7): 516–20.
- Westbom L., Hagglund G., Nordmark E. Cerebral palsy in a total population of 4–11 year olds in southern Sweden. Prevalence and distribution according to different CP classification systems. *BMC pediatrics* 2007; 7: 41.
- Мастюкова Е.М. Дети с церебральным параличом. В: Лубовский В.И., редактор. Специальная психология. М.; 2003.
- O'Shea T.M. Diagnosis, treatment, and prevention of cerebral palsy. *Clinical obstetrics and gynecology* 2008; 51(4): 816–28.
- Lindvall O., Kokaia Z. Progress stem cells for the treatment of neurological disorders. *Nature* 2006; 441: 1094–6.
- Imnitola J. Prospects for neural stem cell-based therapies for neurological diseases. *Neurotherapeutics* 2007; 4(4): 701–14.
- Harting M.T., Sloan L.E., Jimenez F. et al. Subacute neural stem cell therapy for traumatic brain injury. *J. Surg. Res.* 2009; 153(2): 188–94.
- Gonzalez R., Teng Y.D., Park K.I. et al. Neural stem cells: therapeutic applications in neurodegenerative disorders. *Handbook of Stem Cells* 2004; 687–99.
- Wilkins A., Kemp K., Ginty M. et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells secrete brain-derived neurotrophic factor which promotes neuronal survival in vitro. *Stem Cell Res.* 2009; 3(1): 63–70.
- Dharmasaroja P. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of ischemic stroke. *J. Clinical Neurosci.* 2009; 16(1): 12–20.
- Crigler L., Robey R., Asawachaicharn A. et al. Human mesenchymal stem cell subpopulations express a variety of neuro-regulatory molecules and promote neuronal cell survival and neuritegenesis. *Exp. Neurol.* 2006; 198(1): 54–64.
- Harris D.T. Cord blood stem cells: a review on potential neurological applications. *Stem Cells Rev.* 2008; 4(4): 269–74.
- Garbuzova-Davis S., Willing A.E., Zigova T. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: Distribution, migration, and differentiation. *J. Hematother. Stem Cell Res.* 2003; 12: 255–7.
- Lu D., Sanberg P.R., Mahmood A. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury. *Cell Transplant.* 2004; 11: 275–81.
- Chen J., Sanberg P.R., Li Y. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke* 2001; 32: 2682–8.
- Newman M.B., Davis C.D., Kuzmin-Nichols N., Sanberg P.R. Human umbilical cord blood (HUCB) cells for central nervous system repair. *Neurotox. Res.* 2003; 5: 355–68.
- Newman M.B., Davis C.D., Borlongan C.V. et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells in the repair of CNS diseases. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2004; 4: 121–30.
- Toso L., Poggi S., Park J. et al. Inflammatory-mediated model of cerebral palsy with developmental sequelae. *Amer. J. Obstetr. Gynecol.* 2005; 3(S1): 933–41.
- Robertson R., Woodard J.E., Toso L. Postnatal inflammatory rat model for cerebral palsy: Too different from humans. *Amer. J. Obstetr. Gynecol.* 2006; 195(4): 1038–44.
- Girard S., Kadhimi H., Beaudet N. et al. Developmental motor deficits induced by combined fetal exposure to lipopolysaccharide and early neonatal hypoxia/ischemia: A novel animal model for cerebral palsy in very premature infants. *Neuroscience* 2009; 158(2): 673–82.
- Choi E-K., Park D., Kim T.K. et al. Animal models of periventricular leukomalacia. *Lab. Anim. Res.* 2011; 27(2): 77–84.
- Ramirez F., Steenblock D.A., Payne A.G., Darnall L. Umbilical cord stem cell therapy for cerebral palsy. *Med. Hypoth. Res.* 2006; 3: 679–86.
- Buschmann I.R., Hoefer I.E., VanRoyen N. et al. GM-CSF: A strong arteriogenic factor acting by amplification of monocyte function. *Atherosclerosis* 2001; 159: 343–56.
- Taguchi A., Soma T., Tanaka H. et al. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis and angiogenesis in a mouse model. *J. Clin. Invest.* 2004; 114: 330–8.
- McGuckin C.P., Forraz N., Allouard O., Pet-Tengell R. Umbilical cord blood stem cells can expand hematopoietic and neuroglial progenitors in vitro. *Exp. Cell. Res.* 2004; 295: 350–9.
- Bicknese A., Goodwin H., Quinn C. et al. Human umbilical cord blood cells can be induced to express markers for neurons and glia. *Cell Transplant.* 2002; 11: 261–4.
- Yasuhara T., Hara K., Maki M. et al. Intravenous grafts recapitulate the neurorestoration afforded by intracerebrally delivered multipotent adult progenitor cells in neonatal hypoxic-ischemic rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2008; 28(11): 1804–10.
- Yasuhara T., Matsukawa N., Yu G. et al. Behavioral and histological characterization of intrahippocampal grafts of human bone marrow-derived multipotent progenitor cells in neonatal rats with hypoxic-ischemic injury. *Cell Transplant.* 2006; 15(3): 231–8.
- Yasuhara T., Matsukawa N., Yu G. et al. Transplantation of cryopreserved human bone marrow-derived multipotent adult progenitor cells for neonatal hypoxic-ischemic injury: targeting the hippocampus. *Rev. Neurosci.* 2006; 17(1–2): 215–25.
- Bartley J., Carroll J.E. Stem cell therapy for cerebral palsy. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2003; 3(4): 541–9.
- <http://www.rp-online.de/region-duesseldorf/duesseldorf/nachrichten/stammzell-klinik-xcell-muss-schliessen-1.1212066>
- Селедцов В.И., Кафанова М.Ю., Рабинович С.С. и соавт. Клеточная терапия детского церебрального паралича. *Клет. Тех. Биол. Мед.* 2005; 2: 84–8.

Поступила 18.09.2011