



УКРАЇНА

(19) UA (11) 50725 (13) U  
(51) МПК (2009)  
A61B 17/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ПРОГРЕСУЮЧУ М'ЯЗОВУ ДИСТРОФІЮ ТРАНСПЛАНТАЦІЄЮ МІОБЛАСТІВ ЕМБРІОНА ЛЮДИНИ

1

2

(21) u200912423

(22) 01.12.2009

(24) 25.06.2010

(46) 25.06.2010, Бюл.№ 12, 2010 р.

(72) ЦИМБАЛЮК ВІТАЛІЙ ІВАНОВИЧ, ПІЧКУР  
ЛЕОНІД ДМИТРОВИЧ, МАРКОВА ОЛЬГА ВОЛО-  
ДИМИРІВНА(73) ІНСТИТУТ НЕЙРОХІРУРГІЇ ІМ. А.П. РОМО-  
ДАНОВА АМН УКРАЇНИ

(57) Спосіб лікування хворих на прогресуючу м'язову дистрофію трансплантацією міобластів ембріона людини, що є методом клітинної терапії, який відрізняється тим, що шляхом механічної дезагрегації з м'язів ембріона людини 8-9 тижня гестації отримується суспензія клітин-міобластів заданої концентрації (10 млн./мл), ін'єкційно вводиться в уражені м'язи у обсязі 0,5 мл (5-6 ін'єкцій на один м'яз) 3-4 рази на один курс лікування.

Корисна модель стосується медицини, а саме нейрохірургії, і може бути використаний для лікування хворих на прогресуючу м'язову дистрофію, у випадках не ефективності традиційних методів симптоматичного лікування.

Лікування хворих на прогресуючу м'язову дистрофію залишається складною та невирішеною проблемою в неврології та сучасної нейрохірургії. Головним чином це пов'язане з тим, що основною патогенетичною ланкою хвороби є генетичний дефект, мутація гену дистрофіну, який бере участь у формуванні структури м'язового волокна. Відсутність нормальної продукції цього білка веде до дистрофічних змін у м'язах та поступового розвитку рухового дефіциту, зміни осанки, заміни м'язової тканини фіброзною та жировою тканиною. Існують фармакологічні методи лікування хворих на прогресуючу м'язову дистрофію (застосування алопуринола, вітаміна Е, селена, гентаміцина та ін.), але вони, на жаль, малоефективні. Деякий лікувальний ефект справляють імунотропні засоби за рахунок імункоригуючого впливу преднізолоном на антигенспецифічні Т-лімфоцити, які інфільтрують дегенеруючий м'яз і сприяють звільненню тканини від білків некротичних міофібрів. Лікування преднізолоном зменшує прояви хронічного запалення у місцях дегенерації м'язів, але має побічну дію - дитина збільшує свою вагу, розвиваються прояви остеопорозу та ламкість кісток [1]. Ці методи не дозволяють впливати на основну патогенетичну ланку хвороби - мутацію гена дистрофіну, не впливають на кількість дистрофіну в уражених

м'язах, їх доцільно використовувати на ранніх етапах хвороби.

Для часткового вирішення проблеми лікування прогресуючої м'язової дистрофії доцільно використовувати методи, які сприяють поновленню кількості нормально функціонуючих міоцитів системним введенням клітин-попередників гемопоетичного походження (кістковий мозок), які мають велику пластичність, мігрують у вогнища хронічного запалення, під впливом мікрооточення можуть диференціюватися у міобласти та поновлювати вміст дистрофінпродукуючих клітин. Ці підходи на сучасному рівні використовують можливість замісної клітинної терапії, не мають етичних обмежень. На жаль, згадані методики не завжди дозволяють забезпечити ефективну продукцію дистрофіну в уражених м'язах, хоча методами мікроскопії підтверджується довготривала присутність донорських клітин у вогнищах хронічного запалення. Крім того, диференціювання та транс диференціювання донорських клітин кісткового мозку супроводжується дозріванням мультипотентних клітин-попередників, а зрілі клітини організму (крім еритроцитів та нейронів) експресують антигени HLA 1-го класу гістосумісності і теоретично можуть викликати реакції відторгнення з боку імунної системи реципієнта шляхом продукції антигенспецифічних CD8-Т-лімфоцитів [ 2 ]. Наявність імунологічного конфлікту вимагає додаткової корекції імуносупресантами. Такі методи не достатньо ефективні, фінансово затратні.

Найбільш близьким та обраним нами за прототип є спосіб лікування прогресуючої м'язової

(13) U  
(11) 50725  
(19) UA

дистрофії трансплантацією ембріональних міобластів з застосуванням трансфекції генів дистрофіну за допомогою мутантних ретро-або аденовірусів [ 3 ]. Даний метод дозволяє досягнути лікувального ефекту у частини пацієнтів, що було підтверджено аналізом моторної активності хворих згідно загальноновизнаних шкал. Даний метод не дозволяє досягати довготривалого ефекта, бо трансфіковані мутантним аденовірусом клітини експресують на мембрані антигени вірусу, які стають ціллю для цитотоксичних Т-лімфоцитів відповідної специфічності. Таке лікування вимагає застосування імуносупресорів. Крім того, ці технології ускладнюються необхідністю створення генних конструкцій, в яких великі розміри гена дистрофіна мають комбінуватися з вірусом, наявністю «затухання» експресії трансгена, існуванням великої кількості ізоформ білка та ін.) Важливо, що методи трансфекції генів належать до фінансово затратних технологій і вони малодоступні для медичних закладів нашої країни.

Завданням запропонованого винаходу є розробка способу удосконалення методу лікування хворих на прогресуючу м'язову дистрофію трансплантацією міобластів ембріонів людини з застосуванням трансфекції генів дистрофіну за допомогою мутантних ретро- або аденовірусів з метою досягнення лікувального ефекту більш простим та доступним методом, який зберігає якісно відмінні характеристики донорських клітин (здатність продукувати дистрофін), що можуть бути використані для лікування. У якості відмінних характеристик донорських клітин ми використовуємо здатність алогенних ембріональних міобластів продукувати дистрофін, який є структурним елементом м'язових філаментів. Ембріональні міобласти, що трансплантуються у м'язи хворих, не несуть на поверхні антигени вірусу, самі мають низьку експресію антигенів HLA 1-го класу гістосумісності.

Поставлене завдання вирішується тим, що шляхом механічної дезагрегації з м'язів ембріону

людини 8-9 тижня гестації отримується суспензія клітин-міобластів заданої концентрації (10 млн./мл), ін'єкційно вводиться в уражені м'язи у обсязі 0,5 мл (5-6 ін'єкцій на один м'яз) 3-4 рази на один курс лікування.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином. Дитину, хвору на прогресуючу м'язову дистрофію, попередні методи лікування якої були не ефективні, готують для трансплантації фетальних міобластів. М'язову тканину ембріону людини 8-9 тижня гестації подрібнюють ножицями, супернатант переносять у іншу пробірку, центрифугують, отримують суспензію клітин-міобластів заданої концентрації (10 млн./мл), ін'єкційно вводять в уражені м'язи у обсязі 0,5 мл (5-6 ін'єкцій на один м'яз). Таких введенень може бути 3-4 на один курс лікування.

В порівнянні із прототипом, запропонований спосіб має ряд переваг :

- клітини донора не переносять процедуру трансфекції гену дистрофіну і вірусів, зберігають свої біологічні властивості;
- алогенні міобласти не експресують антигенів вірусів і не викликають на себе антигенспецифічну відповідь з боку імунної системи;
- запропонований метод є менш фінансово затратний.

Література.

1. Dubowitz V., Kinali M., Main M., Mercuri E., Muntoni F. Remission of clinical signs in early Duchenne muscular dystrophy on intermittent low-dosage prednisolone therapy // *Europ.J.PediatricNeurology*.-2002.-6.-p.153-159.
2. Voisin V., de la Porte S. Therapeutic strategies for Duchenne and Becker dystrophies // *Int.Rev.Cytol*.-2004.- 240.- p. 1-30.
3. Huard J., Ascadi G., Jani A., Massie B., Korpati G. Gene transfer into skeletal muscles by isogenic myoblasts // *Human Gene Therapy*.-1994.- 5.- p.949-958.