

Винахід належить до медицини, зокрема до неврології і може бути запропонований для лікування порушень спинального кровообігу.

Відомий спосіб лікування порушень спинального кровообігу із застосуванням лікарських препаратів, які покращують метаболізм нервових клітин (ноотропіл, аміналон). Однак ці ліки не впливають на клітини, у яких відбулися незворотні зміни, тому їх потенціал відновлення неврологічних функцій є обмеженим (Скоромець А.А., Тиссен Т.П., Панюшкин А.И., Скоромець Т.А. Сосудистые заболевания спинного мозга. - СПб.:СОТИС, 1998.-526с.).

Також у комплексі лікувальних заходів при лікуванні гострої та хронічної недостатності спинального кровообігу застосовується гіпербарична оксигенація, яка дозволяє значною мірою ліквідувати кисневу заборгованість тканин і відновити аеробний гліколіз. Однак ефективність гіпербаричної оксигенації обумовлена, головним чином, позитивним впливом на нейрональні клітини, які знаходяться у стані "функціонального паралічу". Крім того, при неправильно підбраному режимі можливе збільшення ушкодження тканин за рахунок підсилення процесів вільно-радикального окислювання (Скоромець А.А., Тиссен Т.П., Панюшкин А.И., Скоромець Т.А. Сосудистые заболевания спинного мозга. - СПб.:СОТИС, 1998. - 526с.).

Найбільш близьким і обраним за прототип є спосіб лікування спинального інсульту, який полягає у субарахноїдальній трансплантації фетальних нервових тканин людини шляхом люмбальної пункції (Брюховецкий А.С., Ушаков С.О. Клинико-патогенетическое обоснование применения фетальных тканей человека при заболеваниях центральной нервной системы // Трансплантация фетальных тканей человека. - Москва, 1996.- С. 53-56.).

Недоліками цього методу є етичні проблеми, пов'язані з застосуванням ембріонів людини, а також проблема імунологічної несумісності, яка приводить до відторгнення організмом чужорідних речовин. Незважаючи на ретельний бактеріальний контроль біологічного матеріалу, зберігається можливість зараження інфекційними захворюваннями. Крім того, існують технічні складнощі виділення життєздатних ембріональних нервових клітин.

В основу винаходу поставлено задачу удосконалення способу лікування порушень спинального кровообігу, в якому за рахунок зміни форми трансплантаційного матеріалу досягається заміщення в організмі реципієнта загинувших нервових клітин та відновлення нервової тканини у випадку її пошкодження, внаслідок чого підвищується ефективність лікування, вирішуються імунологічні та етичні проблеми.

Поставлена задача вирішується у спосіб лікування порушень спинального кровообігу шляхом ендолумбальної введення в організм трансплантата нейрональних клітин, згідно з винаходом проводять аутоотрансплантацію клітин строми кісткового мозку пацієнта, які індуковані в нейрональні клітини, трансплантат вводять в кількості від $0,75$ до $1,5 \times 10^6$ індукованих клітин строми кісткового мозку у 2-3мл індукованого середовища.

Хвора людина є сама для себе донором стовбурових клітин, необхідних для клітинної терапії. Використання клітин строми кісткового мозку як джерела плюрипотентних стовбурових клітин дозволяє перетнути бар'єр імунологічної несумісності тканин і вирішити етичні проблеми, які пов'язані з застосуванням людських ембріонів.

Трансплантовані аутонейрональні клітини мігрують у зону пошкодження, утворюють потужну мережу контактів з нейронами мозку, виділяють нейромедіатори, синтезують нейроно- та астроцитоспецифічні білки, трофічні фактори, що приводить до зменшення процесів апоптозу в мозку і покращенню функціонального стану пацієнтів. В той же час аутоотрансплантат не має токсичної дії, індукції пухлинного росту, аутоімунних реакцій.

Спосіб, що заявляють, здійснюють наступним чином.

Кістковий мозок виділяють з кістково-губчастої тканини (1см^3) клубових кісток пацієнта, видавлюючи його у розчин Хенкса (Sigma) за допомогою стерильних шпильок та пінцету. Тканину ресуспендують і двічі відмивають у розчині Хенкса центрифугуючи протягом 10 хвилин при 16с^{-1} . Відмиті клітини ресуспендують у культуральному середовищі DMEM/F 12(1/1) (Sigma) з 10% фетальною бичою сироваткою (Sigma) та розсіюють по 100млн. клітин на культуральну судину (80см^2 , Nunc). Через 24 години культивування середовище з неприкріпленими до субстрату клітинами кісткового мозку видаляють, тричі промивають клітини розчином Хенкса, додають свіже середовище і продовжують культивувати прикріплені фібробластоподібні клітини ще два тижня для отримання первинної культури клітин строми кісткового мозку.

Для диференціації клітин строми кісткового мозку у фібробласти (попередники нервових клітин) використовують 10^{-6}М ретиноевої кислоти, відомого нейроіндуктора, який використовується для нейродиференціювання ембріональних і нервових стовбурових клітин людини. Морфологію клітин оцінюють у живій культурі.

В положенні пацієнта на боці із зігнутими і приведеними до животу ногами в щілину між остистими відростками L_4 - L_5 хребців спеціальною голкою з мандреном виконують люмбальну пункцію з проведенням кінця голки до кінцевої цистерни мозку. Потім виконують аутоотрансплантацію шляхом введення в кінцеву цистерну мозку клітин строми кісткового мозку пацієнта, які індуковані в нейрональні клітини, трансплантат вводять в кількості від $0,75$ до $1,5 \times 10^6$ індукованих клітин строми кісткового мозку у 2-3 мл індукованого середовища.

Клінічні приклади.

Приклад І. Хвора Ф., 16 років, поступила із скаргами на відсутність рухів у нижніх кінцівках, відчуття тепла, важкості та поколювання у нижніх кінцівках.

Вважає себе хворою з 21.11.02 р., коли у школі близько 10^{00} перед уроком фізкультури з'явилося відчуття запаморочення, загальна слабкість, "мигіння перед очима". Далі на уроці після виконання згинання тулубу з положення лежачи відчула біль у попереку, після чого вдруге розвинувся напад загальної слабкості й запаморочення. Через годину приєдналося відчуття оніміння у ділянці правого стегна та "повзання комах" у ділянці лівого колінного суглоба. По дорозі додому помітила виразну болючість у попереку. Понад 17^{00} 21.11.02 р. у положенні навприсядки з'явився постійний пекучий біль в обох нижніх

кінцівках від рівня попереку до кінчиків пальців обох ніг, після чого при спробі встати відчула деяку слабкість у ногах. Через 20 хвилин біль пройшов з появою відчуття "зледніння" у ногах. Далі протягом усього вечора зберігалася виразна слабкість та "розбовтаність" в обох тазостегнових суглобах. 22.11.02 р. біля 10⁰⁰ з'явилося відчуття заморожування у ділянці лівого колінного суглоба, зросла сила у ногах. Близько 11⁰⁰ раптовий пекучий біль і відчуття холоду у ногах, після чого з'явилося відчуття жару у обох ногах і зникли довільні рухи у них із збереженням тільки в пальцях, а також виявилось зниження чутливості на обох ногах. Була викликана МШД, хвора доставлена у ГКБ №7. Близько 15⁰⁰ зникли рухи у пальцях ніг. Стан був розцінений як гострий тромбоз у басейні артерії Адамкевича, у зв'язку з чим о 17⁰⁰ 22.11.02 р. була розпочата тромболітична терапія препаратом "АКТИЛІЗЕ". На тлі терапії, що проводилася, з'явилися глибокі види чутливості та рухи у великому пальці правої стопи. Далі терапія проводилася ноотропами, церебролізином, інстеноном. 24.11.02 р. рухи у пальцях правої ноги зникли.

В неврологічному статусі: свідомість ясна, контакт продуктивний, усі види орієнтації збережені, черепно-мозкові нерви без патології. Черевні рефлексі не викликаються. Сухожильні рефлексі з рук D=S, середньої жвавості, колінні та ахіллові з обох боків не викликаються. Сила м'язів рук та плечового поясу достатня, тонус декілька знижений. Сила м'язів тазового поясу та нижніх кінцівок - 0 балів, тонус нижніх кінцівок різко знижений. Гіпестезія з деяким збереженням чутливості до болю, проприоцептивної, глибокої та складних видів чутливості з рівня L2-L3 праворуч та з рівня L2 ліворуч. Гіпестезія аногенітальної зони. Нетримання сечі та калу.

Діагноз: ішемічний спинальний інсульт у басейні артерії Адамкевича, нижня параплегія, сфінктерні розлади.

У зв'язку з відсутністю позитивної динаміки на тлі медикаментозної терапії було прийняте рішення про проведення операції аутоотрансплантації клітин строми кісткового мозку пацієнта, які індуковані в нейрональні клітини.

25.11.02 р. проведено операцію видалення губчастої речовини клубової кістки праворуч.

17.12.02 р. було проведено операцію аутоотрансплантації клітин строми кісткового мозку пацієнта, які індуковані в нейрональні клітини, шляхом ендолюмбального введення. Хворий введено від 0,75 до 1,5х⁶ індукованих клітин строми кісткового мозку об'ємом 2-3мл індукційного середовища (розчин Хенкса + 2% розчин сироватки пацієнта +80 мкг/мл Гентаміцину + 10⁻⁶М ретиноєвої кислоти) - клітинний препарат.

Через тиждень після операції відмічено появу ахіллових рефлексів, активних рухів у ногах. Сила м'язів нижнього поясу кінцівок зросла до 2-3 балів, група згиначів - 0 балів. Рухи в обох пальцях ніг у повному обсязі, праворуч відновилося тильне згинання стопи, тонус нижніх кінцівок знижений. Гіпестезія з деяким збереженням чутливості до болю, проприоцептивної, глибокої та складних видів чутливості з рівня L2-L3 праворуч та з рівня L2 ліворуч. Гіпестезія аногенітальної зони. Періодично нетримання сечі. Пересувається з підтримкою.

Приклад II. Хворий М., 41 рік, поступив із скаргами на слабкість у ногах та періодичний пекучий біль у них, слабкість у руках.

Вважає себе хворим з 2000 року, коли стали непокоїти слабкість у руках, ногах, пекучий біль у ногах. Обстежувався і лікувався стаціонарно. Був встановлений діагноз: цервікальна мієлопатія, стеноз хребцевого каналу на рівні C5-C6. У липні 2000 року оперований в НДІ ортопедії та травматології (дісектомія C5-C6). В післяопераційному періоді зросли явища цервікальної мієлопатії, зріс верхній парапарез, розвинулася нижня параплегія, сфінктерні порушення. Проводилося відновлювальне лікування. У зв'язку із зростанням спастичності у ногах, поступив до стаціонару на лікування.

В неврологічному статусі: верхній легкий парапарез, нижній грубий спастичний парапарез. Сила м'язів верхніх кінцівок - 3,5 бала, нижніх кінцівок - 2 бала. М'язовий тонус у нижніх кінцівках різко підвищений за спастичним типом. Явища дизартрії, гугнявість голосу.

Діагноз: Цервікальна мієлопатія с тетрапарезом (акцент у ногах), сфінктерними розладами, елементами бульбарного синдрому.

Враховуючи відсутність бажаного ефекту від реабілітаційних заходів, було прийняте рішення про проведення аутоотрансплантації клітин строми кісткового мозку пацієнта, які індуковані в нейрональні клітини.

24.11.03 р. проведено операцію видалення губчастої речовини клубової кістки праворуч.

06.02.03 г. було проведено операцію аутоотрансплантації клітин строми кісткового мозку пацієнта, які індуковані в нейрональні клітини, шляхом ендолюмбального введення. Хворому введено від 0,75 до 1,5х⁶ індукованих клітин строми кісткового мозку об'ємом 2-3мл індукційного середовища (розчин Хенкса + 2% розчин сироватки пацієнта + 80мкг/мл Гентаміцину + 10⁻⁶М ретиноєвої кислоти) - клітинний препарат.

Через тиждень після операції хворий відмічав зменшення спастичності без прийому антиспастичних ліків. В неврологічному статусі зберігається тетрапарез з акцентом у ногах, бульбарний синдром, сфінктерні порушення.

Таким чином, запропонований метод лікування порушень спинального кровообігу сприяє значному клінічному покращенню і не має побічної дії.