



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 119568

(13) U

(51) МПК

A61K 35/30 (2015.01)

A61K 35/407 (2015.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2017 04101</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Сич Наталія Сергіївна (UA), Демчук Марія Петрівна (UA), Матіяшук Ірина Георгіївна (UA), Клунник Марія Олексіївна (UA), Іванкова Олена Віталіївна (UA), Скалозуб Марина Вікторівна (UA), Сінельник Андрій Аркадійович (UA), Сорочинська Христина Ігорівна (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>25.04.2017</b>	
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.09.2017</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.09.2017, Бюл.№ 18</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "ЦЕНТР ЕМБРІОНАЛЬНИХ ТКАНИН "ЕМСЕЛЛ", вул. Сирецька, 37-а, м. Київ, 04073 (UA)</b>

**(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ДІТЕЙ ЗІ СПІНАЛЬНОЮ М'ЯЗОВОЮ АТРОФІЄЮ III ТИПУ****(57) Реферат:**

Спосіб лікування дітей зі спінальною м'язовою атрофією III типу характеризується приготуванням та введенням щонайменше двох препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді розморожених після кріоконсервації суспензій стовбурових клітин, кожна з яких містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 6-9 тижня гестації, при цьому одна суспензія містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини фетального головного мозку, причому суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять внутрішньовенно в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядромісних клітин не менше за  $1,92 \times 10^6$  в 1 мл за одне введення, суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин фетального головного мозку фетуса людини вводять підшкірно в об'ємі не меншому за 0,7 мл з кількістю клітин не менше за  $1,23 \times 10^6$  в 1 мл за одне введення, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять одночасно з проведенням стандартної терапії.

UA 119568 U



Корисна модель належить до галузі медицини, а саме: до дитячої неврології, медичної реабілітації та клітинної терапії, та може бути використана при лікуванні дітей, хворих на спінальну м'язову атрофію III типу (СМА) шляхом введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензій, що містять стовбурові клітини, зокрема стовбурові клітини з фетальної печінки та стовбурові клітини фетального мозку фетуса людини на фоні стандартної медикаментозної терапії.

Спінальна м'язова атрофія (СМА або SMA, аутосомна рецесивна проксимальна спінальна аміотрофія) - різнорідна група спадкових захворювань, що протікають з ураженням / втратою рухових нейронів передніх рогів спинного мозку [2].

Патогенез розвитку спінальної м'язової атрофії визначається геном, що кодує SMN білок, який експресується в усіх тканинах організму з домінуючою локалізацією в мотонейронах спинного мозку. В цитоплазмі та ядрі соматичних клітин SMN асоційований з іншим білком - SIP1, що локалізується в гемах - спеціальних тільцях ядра. Рахується, що дані білки необхідні для регенерації та перетворення мРНК, оскільки, при наявності мутації в SMN в гені, цей процес в хворих порушений [1, 2].

Для спінальних м'язових атрофій характерно порушення роботи поперечносмугастих м'язів ніг, а також голови і шиї. У хворих відзначаються порушення довільних рухів - повзання, хода, утримання голови, ковтання. М'язи рук зазвичай не страждають. Для спінальних аміотрофій характерно збереження чутливості, а також відсутність затримки психічного розвитку.

Ураження рухових нейронів і отже, рухової мускулатури, зумовлює різноманітність клінічних симптомів даного захворювання. Пацієнти зі спінальною м'язовою атрофією страждають від наростаючої м'язової слабкості та атрофії м'язів, важкими порушеннями постави (кіфосколиоз), порушеннями дихання і рухової функції. Чутливість та психічна і інтелектуальна сфери повністю збережені [1, 5].

На сьогоднішній день не існує методів лікування СМА, здатних змінити перебіг захворювання [3, 4]. Підтримуюча терапія полягає в корекції симптомів і профілактиці ускладнень. Найбільш часті заходи включають в себе забезпечення необхідного споживання поживних речовин, респіраторну підтримку, лікувальну фізкультуру і заходи, які проводяться на термінальних стадіях захворювання. Незважаючи на те, що для СМА вже розроблені стандарти надання допомоги, існує необхідність в оновленні та деталізації останніх. Фізіо- та працетерапевтичні програми можуть допомогти як дітям, так і дорослим навчитися найкращому використанню наявних у них м'язових функцій, і знайти найбільш ефективні способи виконання повсякденних справ. Існуючі сьогодні різні допоміжні пристосування можуть допомогти навіть самим маленьким дітям в пізнанні навколишнього світу. Вертикалізатори, ходунки, різні типи електричних і ручних візків, ортези - все це може допомогти в стоянні і пересуванні.

В даний час СМА невиліковна, однак по всьому світу проводяться багатообіцяючі клінічні дослідження. У них вивчаються різні методи підвищення стримання білка SMN: шляхом заміщення або виправлення мутації в гені SMN1, шляхом модуляції негативних і позитивних регуляторів сплайсингу для включення 7-го екзонів в ген SMN2, шляхом підвищення промоторної активності SMN2 або шляхом стабілізації та протекції повнорозмірних білків SMN і SMN7. З огляду на те, що в розробці терапевтичної стратегії центральну роль відіграє аугментація білка SMN, важливим є визнання його мінімального вмісту, необхідного для виживання і функціонування клітини. Згідно з результатами доклінічних досліджень, для збереження фенотипу SMN у пацієнтів з двома копіями SMN2 необхідно щонайменше 25 % збільшення вмісту повнорозмірного білка SMN [5].

Проведено кілька високопродуктивних скринінгових тестів на з'єднання, здатні модулювати експресію SMN. Крім регуляції експресії SMN2 пропонувалися й інші підходи, наприклад застосування стовбурових клітин, нейропротективних молекул і сполук, що підвищують м'язову силу. Необхідно відзначити, що нейропротективні чинники зростання і м'язові стимулятори можуть призводити до системних небажаних реакцій, а їх позитивний вплив на сьогоднішній день залишається недоведеним. В даний час щонайменше 17 досліджень, як доклінічних, так і клінічних, присвячені вивченню різних методів терапії СМА [3].

Одним із перспективних напрямків може бути застосування клітинної терапії у лікуванні хворих з СМА.

Відомий спосіб модуляції рухливої функції у суб'єкта з порушенням рухових нейронів, що включає введення терапевтичної ефективною кількості композиції, що містить рекомбінантний віріон AAV і фармацевтично приємний ексципієнт (заявка Російської Федерації на винахід № 2011149094, дата подання 27.04.2010). Також відомий спосіб забезпечення білка SMN у суб'єкта зі спінальною м'язовою атрофією (SMA), що включає введення рекомбінантного віріону AAV,

що містить вектор AAV у клітини суб'єкта, що потребує цього (заявка Російської Федерації на винахід № 2011149094, дата подання 27.04.2010).

При цьому композиції, згідно з вищезазначеними способами, вводять безпосередньо в щонайменше одну область глибоких ядер мозочка або шляхом прямої ін'єкції у спинний мозок, або безпосередньо за допомогою інтрацеребровентрикулярної ін'єкції, або за допомогою інтратекальної ін'єкції.

Недоліком відомих способів є недостатня ефективність лікування дітей зі СМА III типу та складність і травматичність введення композиції.

Відомий спосіб полегшення щонайменше одного симптому спінальної м'язової атрофії у суб'єкта, що включає введення суб'єкта, який має щонайменше один симптом, асоційований зі спінальною м'язовою атрофією, антисмислового з'єднання, що містить антисмислової олігонуклеотид, комплементарний інтрону 7 пре-мРНК, що кодує людський SMN2, де антисмисловий олігонуклеотид має нуклеїнову послідовність, що складається із нуклеїнової послідовності SEQ ID NO: 1, де кожний нуклеозид антисмислового олігонуклеотиду містить модифікований залишок цукру, де кожний модифікований залишок цукру являє собою 2'-метоксіетил залишок цукру і де кожний міжнуклеозидний зв'язок являє собою фосфоротіоатний зв'язок (патент Російської Федерації на винахід № 2566724, дата публікації - 27.10.2015р.).

Недоліком відомого способу є недостатня ефективність лікування дітей зі СМА III типу.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є створення способу лікування дітей зі спінальною м'язовою атрофією III типу препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин, в якому за рахунок запропонованої послідовності проведення лікування з використанням двох розморожених після кріоконсервації суспензій стовбурових клітин емпірично підбраного складу, забезпечується підвищення ефективності лікування дітей на СМА III типу, зокрема покращення функціонального стану дитини при зменшенні прогресування м'язової слабкості, атрофії м'язових волокон та покращенні дихальних функцій без необхідності підбору донора за антигенами гістосумісності. В результаті - покращуються рухові здібності дитини. Крім цього забезпечується запобігання виникнення алергійних реакцій дітей на СМА III типу при проведенні лікування.

Поставлена задача вирішується запропонованим способом лікування дітей зі СМА III типу, який характеризується приготуванням та введенням щонайменше двох препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді розморожених після кріоконсервації суспензій стовбурових клітин, кожна з яких містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 6-9 тижня гестації, при цьому одна суспензія містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини фетального головного мозку, причому суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять внутрішньовенно в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за  $1,92 \times 10^6$  в 1 мл за одне введення, суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин фетального головного мозку фетуса людини вводять підшкірно в об'ємі не меншому за 0,7 мл з кількістю клітин не менше за  $1,23 \times 10^6$  в 1 мл за одне введення, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять одночасно з проведенням стандартної медикаментозної терапії, а перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки додатково виконують премедикацію.

Як стандартну терапію призначають комплексні інтегральні методики реабілітації.

Суспензію розморожених після кріоконсервації стовбурових клітин з фетальної печінки, як правило, вводять разом із фізіологічним розчином натрію хлориду зі швидкістю 20-40 крапель за хвилину.

При цьому премедикацію виконують шляхом внутрішньовенного введення 5 мг димедролу і 15 мг преднізолону.

Перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини додатково виконують неврологічне та інструментальне обстеження стану хворої дитини.

Перед проведенням лікування та через 6 і 12 місяців після введення розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та розмороженої після кріоконсервації суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини, здійснюють контроль активності стану дитини за клінічними та інструментальними показниками.

Нами встановлено, що за рахунок введення принаймні двох суспензій емпірично підбраного складу, що містять стовбурові клітини ембріофетального походження, а саме внутрішньовенного введення суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки людини 6-9

тижня гестації в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за  $1,92 \times 10^6$  в 1 мл за одне введення та підшкірного введення суспензії стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини 6-9 тижня гестації, в об'ємі не меншому за 0,7 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за  $1,23 \times 10^6$  в 1 мл за одне введення, забезпечується стимуляція роботи власних біологічно активних речовин хворого у природних умовах за рахунок різноманітних нейротрофічних факторів, що виділяють стовбурові клітини, та забезпечується потрапляння оптимальної кількості стовбурових клітин в ділянки пошкоджених м'язів, де стовбурові клітини активно розмножуються, в результаті чого відбувається регенерація міоцитів та заміщення стовбуровими клітинами уражених м'язів. Крім того, відбувається утворення та проростання сітки нових кровоносних судин до ураженого органу та м'язів, що створюють додатковий кровотік. При цьому покращується якість життя, хворих на СМА. Крім цього проведення премедикації перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки дозволяє запобігти виникненню алергійних реакцій хворих під час проведення лікування при хорошій переносимості лікування.

Використання саме фетальної печінки та фетального мозку фетуса людини, для отримання стовбурових клітин з метою приготування лікувальних препаратів у вигляді суспензій обумовлено їх пластичністю, зокрема, здатністю таких клітин зазнавати змін та диференціації у відповідь на навколишній вплив або відповідно до їх внутрішньої програми. Відомо, що клітини ембріофетального походження здатні до росту, розмноження, диференціації, міграції та встановлення зв'язків з іншими клітинами. Порівняно з клітинами зрілих тканин, вони мають кращу здатність до проліферації. Їх введення є ефективнішим також з огляду на утворення великої кількості ростових факторів. Клітини з фетальної печінки можуть виробляти значну кількість факторів росту, нейротрофічного фактору, цитокінів, інтерлейкінів, що сприяють виживанню та росту, проліферації, диференціації, та можуть стимулювати регенерацію за рахунок оточуючих клітин господаря.

Крім цього клітини з фетальної печінки мають здатність виживати при нижчому рівні кисню, ніж їх повністю диференційовані аналоги, що робить їх більш стійкими до ішемічного ушкодження як під час маніпуляцій *in vitro*, так і після їх введення. Проліферуючі або незрілі клітини з фетальної печінки переважно не мають довгих відростків або сильної міжклітинної адгезії і тому зазнають менших пошкоджень під час приготування суспензії стовбурових клітин. Ці властивості дозволяють вводити стовбурові клітини з фетальної печінки шляхом внутрішньовенної ін'єкції у вигляді суспензії [4]. Ці характеристики можуть пояснити і підвищене виживання клітин і тканин фетальної печінки, в порівнянні з дорослими, після кріоконсервації.

Високий вміст стовбурових клітин фетального мозку забезпечує їх ріст, міграцію та утворення міжклітинних контактів. Ці клітини здатні підлягати змінам і диференціюванню у відповідь на стимули оточуючого середовища.

Трансплантація стовбурових клітин фетальної печінки та фетального мозку має перевагу перед трансплантацією клітин і тканин від дорослого донора, тому що не викликає відторгнення трансплантованої тканини. Це забезпечується тим, що в нейронах іглії фетального мозку людини антигени 1 і 2 класу головного комплексу гістосумісності не експресовані.

Спосіб лікування дітей, хворих на СМА III типу препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин, здійснюють таким чином.

Спочатку проводять неврологічне та інструментальне обстеження дітей, хворих на СМА III типу:

1. Обстеження неврологічного статусу.
2. Загальні аналізи крові, сечі.
3. Визначення рівня АЛТ, АСТ, КФК, ЛДГ.
4. Спірометрія.
5. Електронеуроміографія.
6. Генетичне тестування.

Далі виготовляють два препарати у вигляді суспензій кріоконсервованих стовбурових клітин, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини фетального мозку фетуса людини. Для цього в умовах операційної, з дотриманням правил асептики та антисептики, одержують ембріофетальний матеріал, а саме: тканину печінки, тканину фетального мозку фетуса людини від 6 до 9 тижнів гестації, які загинули внаслідок медичного аборту в випадках, коли вагітність переривали за соціальними показниками при відсутності патології розвитку чи інфікованості фетуса та наявності інформованої згоди жінки. Вилучені тканини ембріофетального походження поміщають в стерильне транспортне середовище розчину Хенкса. В стерильних умовах тканини сепарують та гомогенізують в розчині Хенкса. Отримані суспензії піддають фільтрації та кріоконсервують.

Як кріопротектор використовують диметилсульфоксид. Далі готові суспензії розливають в кріопробірки в об'ємі 0,1-1,0 мл. Кріоконсервування суспензій клітин проводять у камері програмного заморожувача за розробленою програмою. Таке кріоконсервування забезпечує практично необмежене довгострокове зберігання вказаних суспензій, дозволяє протягом

5 необхідного часу дослідити препарати у вигляді суспензії на бактеріологічну та вірусологічну безпеку, визначити якісні та кількісні показники суспензії, сформувати банк суспензій стовбурових клітин, відповідно до визначених вимог до препаратів. Суспензії, що містять стовбурові клітини з фетальної печінки та клітини з фетального мозку фетуса людини, зберігають в кріобанку в рідкому азоті при температурі  $-196^{\circ}\text{C}$ .

10 При формуванні банку суспензій з тканин ембріофетального походження для лікування хворих на СМА, суспензія стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензія стовбурових клітин фетального мозку фетуса людини, повинні мати такі параметри: вміст ядровмісних клітин (підраховують загальну кількість ядровмісних клітин в одиниці об'єму за допомогою клітинного аналізатора чи візуально під мікроскопом в лічильній камері) повинен становити не менше ніж

15  $1,92 \times 10^6$  в 1 мл суспензії для ядровмісних клітин з фетальної печінки та не менше за  $1,23 \times 10^6$  в 1 мл суспензії для ядровмісних клітин з фетального мозку фетуса людини; вміст живих клітин після кріоконсервування - не менше, ніж 90 %.

Пробірки, що містять суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини, безпосередньо перед введенням виймають з рідкого азоту, занурюють у водяну баню при температурі  $+37^{\circ}\text{C}$  та витримують до появи рідкої фази. Подальші маніпуляції проводять при кімнатній температурі з суворим дотриманням правил асептики. Час перебування розмороженої суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин фетального мозку фетуса людини, при кімнатній температурі не повинен перевищувати 10 хвилин.

25 При цьому перед введенням вказаних суспензій здійснюють додатковий контроль якості суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини, зокрема проводять мікроскопію та здійснюють підрахунок кількості життєздатних клітин за допомогою автоматичного клітинного аналізатора чи візуально під мікроскопом в лічильній камері. Вміст живих клітин після кріоконсервування - не менше, ніж 90 %.

30 Перед початком проведення лікування дітей, хворих на СМА III типу шляхом введення розморожених після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії фетального мозку фетуса людини, виконують інструментальне (чи клінічне?) та неврологічне обстеження стану хворого. Далі, перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки, з метою запобігання виникнення алергійних реакцій під час лікування, виконують премедикацію шляхом внутрішньовенного введення 5 мг димедролу і 15 мг преднізолону через систему для переливання крові. Після цього разом із фізіологічним розчином натрію хлориду вводять розморожену суспензію стовбурових клітин з фетальної печінки шляхом внутрішньовенного введення зі швидкістю 20 - 40 крапель за хвилину. При цьому об'єм лікувальної дози суспензії для одного введення підбирають індивідуально, але не менше за 0,1 мл, з кількістю ядровмісних клітин не меншою за  $1,92 \times 10^6$  в 1 мл. Введення розмороженої суспензії стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини, здійснюють підшкірно в об'ємі не меншому за 0,7 мл з кількістю ядровмісних клітин, не менше за  $1,23 \times 10^6$  в 1 мл за одне

45 введення. Така кількість клітин забезпечує необхідну якість суспензій та достатня для отримання високої ефективності лікування хворих на СМА.

Одночасно з введенням розморожених суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини, проводять стандарту терапію, що включає проведення комплексних інтегральних методик реабілітації.

50 Після введення розморожених після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини, хворий знаходиться під спостереженням. Причому після проведення лікування через 6 і 12 місяців здійснюють контроль активності стану хворого за клінічними та інструментальними показниками.

55 При цьому точки спостереження вибирають, згідно з протоколом клінічного застосування препарату з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин, розробленим на основі клінічного досвіду.

Ефективність лікування дітей, хворих на СМА III типу оцінюють за покращенням соціальної адаптації дитини та покращенням дихання.

Так, з 2004 по 2016 роки у клініці клітинної терапії були проліковані 17 дітей, хворих на СМА III типу, відповідно до способу лікування СМА III типу, що заявляється. У всіх хворих спостерігався синдром раннього післяінфузійного покращення: відбувалося поліпшення сну, покращився апетит. Після проведеного введення суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки в жодному випадку не спостерігались ускладнення чи побічні явища, в тому числі реакція «трансплантат проти господаря» (РТПГ).

Після проведеного лікування спостерігалось покращення якості життя хворих, покращились функціональні можливості легенів (форсована життєва ємкість легенів (ФЖЄЛ), об'єм форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ1) (див. табл.).

Таблиця

	ФЖЄЛ, %	ОФВ1, %
Перед лікуванням	87,26±4,1	90,12±3,5
Через 6 місяців	94,29±2,3	96,31±2,2
Через 12 місяців	98,24±5,1**	99,24±2,6**

\* -  $p < 0,05$  - статистично значуще покращення перед лікуванням та через 6 місяців після лікування

\*\* -  $p < 0,05$  - статистично значуще покращення перед лікуванням та через 12 місяців після лікування

Отже, після проведеного лікування через 12 місяців спостерігалось статистично значуще покращення показників ФЖЄЛ та ОФВ1 - 98,24±5,1 % та 99,24±2,6 % відповідно в порівнянні з показниками до лікування (87,26±4,1 %) та (90,12±3,5 %) відповідно.

Також, після проведеного лікування спостерігалось покращення таких лабораторних показників, які відображають міоліз. У пацієнтів з СМА III типу спостерігалось достовірне зниження креатинфосфокінази (КФК), починаючи з 6 місяця в порівнянні з показниками до лікування (2583,4±49,22 Од/л до лікування, 1912,3±31,12 Од/л через 6 місяців, 918,0±19,27 Од/л через 12 місяців),  $p < 0,05$ . До лікування середній бал показника лактатдегідрогенази (ЛДГ) дорівнював 526,4±18,04 Од/л. Через 6 місяців після лікування спостерігається тенденція до зниження рівня ЛДГ (379±21,03 Од/л). Через 12 місяців цей показник достовірно знизився та становив 284±19,11 Од/л,  $p < 0,05$ .

Корисна модель, що заявляється, пояснюється наступними прикладами.

Приклад 1.

Пацієнт С., 2007 р.н., історія хвороби № 193. Хворий знаходився в клініці клітинної терапії з метою лікування СМА III типу. Із анамнезу відомо, що перші симптоми у вигляді слабкості в м'язах ніг батьки помітили в 2-річному віці. Народився від 1-ої вагітності, ускладненої стресом, при терміні 39 тижнів, з вагою 2850 г. Ранній психомоторний розвиток був з затримкою.

Об'єктивно: Правильної будови тіла, ходить самостійно. Шкірні покриви та слизові оболонки чисті, звичайного кольору. Язик чистий, вологий. Доступні огляду лімфовузли не пальпуються. Перкуторно: межі серця без змін. Мелодія серцевої діяльності правильна, тони звучні. При перкусії легень - на симетричних ділянках - легеневи ясний звук. В легенях вислуховується везикулярне дихання без хрипів, жорстке. Живіт при пальпації м'який, безболісний. Петлі кишечника без змін. Печінка та селезінка не збільшені, безболісні при пальпації. Симптом Пастернацького негативний з обох боків. Фізіологічні випорожнення не порушені, регулярні. Пульсація периферичних артерій збережена.

Неврологічний статус: Дитина активна, на огляд реагує адекватно. Спостерігається збіжна правобічна косоокість. Очні щілини D=S. Обличчя симетричне. М'язовий тонус в ногах дещо знижений, D=S. М'язова сила знижена в ногах, D=S з ОАР 4 б. Голову утримує. Самостійно сидить. Сухожилкові рефлекси дещо знижені в ногах, D=S. Патологічний рефлекс Бабінського не викликається з обох боків. Менінгеальні знаки не визначаються.

Перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки хворому була проведена премедикація шляхом внутрішньовенного введення 5 мг димедролу і 15 мг преднізолону. Введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки в об'ємі 1,9 мл шляхом внутрішньовенного крапельного введення. На другий день введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини, підшкірно в об'ємі 2,1 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки: вік фетуса - 7 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин -  $11,6 \times 10^6$  в 1 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових

клітин з фетального мозку фетуса: вік фетуса - 7 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин -  $9,03 \times 10^6$  в 1 мл.

У перші кілька діб після введення вказаних суспензій спостерігався синдром раннього після інфузійного покращення, який проявлявся покращенням сну та апетиту.

Після проведеного лікування через 12 місяців спостерігалось статистично значуще покращення показників ФЖЄЛ та ОФВ1 -  $97,15 \pm 4,2$  % та  $98,17 \pm 1,6$  % відповідно в порівнянні з показниками до лікування ( $86,15 \pm 3,1$  %) та ( $90,12 \pm 2,5$  %) відповідно.

Також, після проведеного лікування спостерігалось покращення таких лабораторних показників, які відображають міоліз. У пацієнтів з СМА III типу спостерігалось достовірне зниження креатинфосфокінази (КФК), починаючи з 6 місяця, в порівнянні з показниками до лікування ( $2342,4 \pm 41,21$  Од/л до лікування,  $1844,3 \pm 30,12$  Од/л через 6 місяців,  $987,0 \pm 14,17$  Од/л через 12 місяців),  $p < 0,05$ . До лікування середній бал показника лактатдегідрогенази (ЛДГ) дорівнював  $426,4 \pm 28,04$  Од/л. Через 6 місяців після лікування спостерігається тенденція до зниження рівня ЛДГ ( $363 \pm 20,02$  Од/л). Через 12 місяців цей показник достовірно знизився та становив  $273 \pm 18,21$  Од/л,  $p < 0,05$ .

Приклад 2.

Пацієнт С., 2011 р. н., історія хвороби № 105. Хворий знаходився в клініці клітинної терапії з метою лікування СМА III типу. В віці 2,5 років батьки помітили проблеми з ходою у дитини, звернулись до лікаря, був обстежений. Проведений неврологічний огляд, генетичне дослідження, біопсія м'язів, після чого був виставлений діагноз СМА III типу.

Об'єктивно: Правильної будови тіла, дитина ходить самостійно. Шкірні покриви та слизові оболонки чисті, звичайного кольору. Язик чистий, вологий. Доступні огляду лімфовузли не пальпуються. Перкуторно: межі серця без змін. Мелодія серцевої діяльності правильна, тони звучні. При перкусії легень - на симетричних ділянках - легеневиий ясний звук. В легенях вислуховується везикулярне дихання без хрипів, жорстке. Живіт при пальпації м'який, безболісний. Петлі кишечника без змін. Печінка та селезінка не збільшені, безболісні при пальпації. Симптом Пастернацького негативний з обох боків. Фізіологічні відправлення не порушені, регулярні. Пульсація периферичних артерій збережена.

Неврологічний статус: Дитина активна, на огляд реагує адекватно. Спостерігається збіжна правобічна косоокість. Очні щілини D=S. Обличчя симетричне. М'язовий тонус в ногах дещо знижений, D=S. М'язова сила знижена, D=S з ОАР до 4,5 б. Голову утримує. Самостійно сидить. Сухожилкові рефлекси дещо знижені в ногах, D=S. Патологічний рефлекс Бабінського не викликається з обох боків. Менінгеальні знаки не визначаються. Згладжений поперековий лордоз.

Перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки хворому була проведена премедикація шляхом внутрішньовенного введення 5 мг димедролу і 15 мг преднізолону. Введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки в об'ємі 1,7 мл шляхом внутрішньовенного крапельного введення. На другий день введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального мозку фетуса людини, підшкірно в об'ємі 2,3 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки: вік фетуса - 8 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин -  $31,5 \times 10^6$  в 1 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального мозку фетуса: вік фетуса - 8 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин -  $8,15 \times 10^6$  в 1 мл.

У перші кілька діб після введення вказаних суспензій спостерігався синдром раннього після інфузійного покращення, який проявлявся покращенням сну та апетиту.

Після проведеного лікування через 12 місяців спостерігалось статистично значуще покращення показників ФЖЄЛ та ОФВ1 -  $97,31 \pm 5,1$  % та  $99,78 \pm 2,7$  % відповідно в порівнянні з показниками до лікування ( $88,15 \pm 4,1$  %) та ( $92,23 \pm 2,5$  %) відповідно.

Також, після проведеного лікування спостерігалось покращення таких лабораторних показників, які відображають міоліз. У пацієнтів з СМА III типу спостерігалось достовірне зниження КФК, починаючи з 6 місяця, в порівнянні з показниками до лікування ( $1787,4 \pm 32,21$  Од/л до лікування,  $978,3 \pm 27,13$  Од/л через 6 місяців,  $921,0 \pm 16,21$  Од/л через 12 місяців),  $p < 0,05$ . До лікування середній бал показника лактатдегідрогенази (ЛДГ) дорівнював  $434,4 \pm 12,05$  Од/л. Через 6 місяців після лікування спостерігається тенденція до зниження рівня ЛДГ ( $327 \pm 22,03$  Од/л). Через 12 місяців цей показник достовірно знизився та нормалізувався та становив  $202 \pm 15,12$  Од/л,  $p < 0,05$ .

Отже, запропонований спосіб лікування дітей, хворих на СМА III типу препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин дозволяє підвищити ефективність лікування хворих на СМА III типу, зокрема покращити функціональний стан



хворого, підтримати дихання дитини та соціальну адаптацію дитини без необхідності підбору донора за антигенами гістосумісності. В результаті - продовжується тривалість та якість життя, полегшуються симптоми дітей, хворих на СМА III типу.

Джерела інформації:

1. Евтушенко С.К., Шаймурзин М.Р., Евтушенко О.С., Евтушенко Л.Ф., Дегонская Е.В., Евтушенко И.С., Сохань Д.А. Ранняя клиничко-инструментальная диагностика и терапия быстро- и медленно прогрессирующих мышечных дистрофий и амиотрофий // Международный неврологический журнал. - 2007. - № 4 (14). - С. 8-12.
2. Казаков В.М. Клиничко-молекулярно-генетическая классификация мышечных дистрофий (научный обзор с комментариями) // Неврол. журнал. - 2001. - № 3. - С. 47-52.
3. Faravelli I., Nizzardo M., Coti G.P., Corti S. Spinal muscular atrophy - recent therapeutic advances for an old challenge // Nat. Rev. Neurol. 2015. - V. 11. № 6. - P. 351-359.
4. Gabanella F., Carissimi C., Usiello A., Pellizzoni L. The activity of the spinal muscular atrophy protein is regulated during development and cellular differentiation // Hum. Mol. Genet. - 2005. - V. 14, № 23. - P. 3629-3642.
5. Monani U.R., Lorson C.L., Parsons D.W. et al. A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2//Hum. Mol. Genet. - 1999. - V. 8, №7. - P. 1177-1183.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб лікування дітей зі спінальною м'язовою атрофією III типу, який характеризується приготуванням та введенням щонайменше двох препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді розморожених після кріоконсервації суспензій стовбурових клітин, кожна з яких містить терапевтично ефективну кількість стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 6-9 тижня гестації, при цьому одна суспензія містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини фетального головного мозку, причому суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять внутрішньовенно в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за  $1,92 \times 10^6$  в 1 мл за одне введення, суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин фетального головного мозку фетуса людини вводять підшкірно в об'ємі не меншому за 0,7 мл з кількістю клітин не менше за  $1,23 \times 10^6$  в 1 мл за одне введення, причому вказані суспензії стовбурових клітин вводять одночасно з проведенням стандартної терапії, а перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки додатково виконують премедикацію.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як стандартну медикаментозну терапію призначають комплексні інтегральні методики реабілітації.
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять разом із фізіологічним розчином натрію хлориду зі швидкістю 20-40 крапель за хвилину.
4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що премедикацію виконують шляхом внутрішньовенного введення 5 мг димедролу і 15 мг преднізолону.
5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетального головного мозку фетуса людини додатково виконують неврологічне та інструментальне обстеження стану хворої дитини.
6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед проведенням лікування та через 6 і 12 місяців після введення розмороженої після кріоконсервації суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та розмороженої після кріоконсервації суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин фетального головного мозку фетуса людини здійснюють контроль активності стану дитини за клінічними та інструментальними показниками.

---

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601