



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 92835

(13) U

(51) МПК

A61K 35/30 (2006.01)

A61K 35/407 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки:	u 2014 02346	(72) Винахідник(и):	Сич Наталія Сергіївна (UA), Клунник Марія Олексіївна (UA), Матіяшук Ірина Григорівна (UA), Іванкова Олена Віталіївна (UA), Скалозуб Марина Вікторівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	07.03.2014	(73) Власник(и):	ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "ЦЕНТР ЕМБРІОНАЛЬНИХ ТКАНИН "ЕМСЕЛЛ", вул. Сирецька, 37-а, м. Київ, 04073 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.09.2014		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.09.2014, Бюл.№ 17		

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ М'ЯЗОВОЇ ДИСТРОФІЇ ДЮШЕНА ПРЕПАРАТАМИ З МАТЕРІАЛУ ЕМБРІОФЕТАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ ТА ВИДІЛЕНИХ З НЬОГО КЛІТИН**(57) Реферат:**

Спосіб лікування м'язової дистрофії Дюшена включає приготування та введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензії, яка містить стовбурові клітини. Виготовляють та вводять принаймні два препарати у вигляді суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 5-12 тижня гестації, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини з фетального головного мозку. Суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять шляхом внутрішньовенного введення в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $3,72 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення. Суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку вводять підшкірно в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $1,14 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення. Перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки додатково виконують премедикацію.

UA 92835 U

Корисна модель належить до медицини, а саме: до неврології, педіатрії та клітинної терапії, та може бути використана при лікуванні дітей, хворих на м'язову дистрофію Дюшена 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 з фетального головного мозку на фоні стандартної терапії.

Відомо, що м'язова дистрофія Дюшена (МДД) - це серйозне рецесивне захворювання, зчеплене з Х-хромосомою, що характеризується швидким прогресуванням м'язової дистрофії, яка в кінцевому підсумку призводить до повної втрати здатності рухатися та смерті хворого.

Це захворювання уражає приблизно 1 особу з 4000, тобто - це найбільш поширений тип м'язової дистрофії. Зазвичай, на МДД хворіють лише чоловіки, хоча жінки можуть іноді бути носіями гену захворювання. Якщо ж батько хворий на МДД, а мати є носієм, або теж хвора, то в такому випадку на м'язову дистрофію Дюшена може захворіти жінка. Розлад зумовлений мутацією в гені дистрофіну, який у людей розташований на Х-хромосомі (Хр21). Ген дистрофіну кодує діяльність білка дистрофіну, який є важливою структурною складовою м'язової тканини. Дистрофін забезпечує структурну стійкість дистрофін-асоційованого-глікопротеїнового комплексу (ДАГ комплексу), який розташований на клітинній мембрані.

В даний час як основні патогенетичні механізми, що лежать в основі ушкодження м'язових волокон при відсутності дистрофіну і асоційованого з ним білкового комплексу, розглядаються: 1) ослаблення сарколеми в результаті втрати механічної підтримки, яку забезпечує дистрофін; 2) невідповідність нормальному рівню притоку кальцію в клітини; 3) порушення передачі сигналів клітинами; 4) окислювальний стрес; 5) ішемія м'язів, що періодично повторюється [1].

З часу відкриття гена МДД близько 20 років тому досягнуті різні успіхи в лікуванні МДД в доклінічних дослідженнях на тваринах, деякі із яких підтвердились на людях. Стратегії лікування, які існують в теперішній час, можна поділити на три групи: перша - генна терапія, друга - клітинна терапія, третя - фармакологічна терапія. Генна та клітинна терапії мають фундаментальні переваги, усуваючи необхідність в окремій корекції вторинних дефектів/патологій (наприклад контрактур), особливо, якщо лікування розпочато на початкових стадіях перебігу захворювання.

Дітям, що хворі на м'язову дистрофію Дюшена, як фармацевтичну терапію можуть призначати стероїдний препарат преднізолон, що дозволяє уповільнити руйнування м'язів, у віці 5-6 років, або коли хвороба поглиблюється. Проте недоліком лікування стероїдними препаратами є наявність побічних ефектів. Зокрема преднізолон може призвести до збільшення ваги тіла, що збільшує навантаження на слабкі м'язи, втрати кісткової тканини. Як наслідок - переломів.

Клітинна терапія може бути оптимальною при цьому захворюванні, оскільки вона сприяє м'язовій регенерації.

Відомий спосіб лікування м'язової дистрофії, що включає введення диференційованих клітин людини, що походять із ембріональних стовбурових клітин чи клітин, які подібні ембріональним стовбуровим клітинам, чи іншим типам стовбурових клітин, які походять із ембріона, шляхом переносу ядер соматичних клітин (заявка Російської Федерації на винахід № 2004117092, дата публікації -20.11.2005р., кл. МПК: C12N 5/00).

Відомий спосіб дозволяє лікувати захворювання та стани, зокрема, хворобу Паркінсона, хворобу Альцгеймера, дефекти або пошкодження спинного мозку, розсіяний склероз, м'язову дистрофію, тощо.

Недоліком відомого способу лікування м'язової дистрофії є його складність та недостатня ефективність лікування саме м'язової дистрофії Дюшена.

Відомий спосіб лікування м'язової дистрофії, що включає приготування та введення суспензії, яка містить диференційовані клітини, що отримані із лінії стовбурових клітин (заявка Російської Федерації на винахід № 2009140974, дата публікації - 20.05.2011р., кл. МПК: C12N 5/071).

Недоліком відомого способу лікування м'язової дистрофії є недостатня ефективність лікування м'язової дистрофії Дюшена, зокрема, для забезпечення покращення функціонального стану хворих, дихання та скоротливої функції серця.

Найбільш близьким до способу лікування м'язової дистрофії Дюшена, що заявляється, є спосіб лікування прогресуючої м'язової дистрофії, що включає приготування та введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензії, яка містить клітини-міобласти заданої концентрації (10 млн./мл), отримані шляхом механічної дезагрегації з м'язів ембріона людини 8-9 тижня гестації (патент України на корисну модель № 50725, дата публікації - 25.06.2010 р, кл. МПК: A61A 17/00). Причому суспензію

вводять ін'єкційно в уражені м'язи в обсязі 0,5 мл (5-6 ін'єкцій на один м'яз) 3-4 рази на один курс лікування.

Недоліком відомого способу лікування м'язової дистрофії є недовготривалість ефекту лікування при недостатньому зменшенні прогресування м'язової слабкості, що призводить зокрема до подальшого погіршення функціонального стану хворих, дихання та скоротливої функції серця.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є удосконалення способу лікування м'язової дистрофії Дюшена препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин, в якій за рахунок запропонованої послідовності проведення лікування забезпечується підвищення ефективності лікування МДД, зокрема покращення функціонального стану хворого, дихання та скоротливої функції серця при зменшенні прогресування м'язової слабкості без необхідності підбору донора за антигенами гістосумісності. В результаті - покращуються рухові функції, якість життя та соціальна адаптація дітей, хворих на МДД. Крім цього забезпечується запобігання виникненню алергійних реакцій та запобігання відторгнення стовбурових клітин з фетальної печінки та стовбурових клітин з фетального головного мозку організмом хворих на МДД при проведенні лікування.

Поставлена задача вирішується запропонованим способом лікування МДД, що включає приготування та введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензії, яка містить стовбурові клітини, в якому виготовляють та вводять принаймні два препарати у вигляді суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 5-12 тижня гестації, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини з фетального головного мозку, причому суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять шляхом внутрішньовенного введення в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $3,72 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, а суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку вводять підшкірно в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $1,14 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, при цьому перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки додатково виконують премедикацію.

Суспензію кріоконсервованих 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 10 мг димедролу і 15 мг преднізолону.

Перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку додатково виконують клініко-неврологічне, лабораторне та інструментальне обстеження стану хворого.

Перед проведенням лікування та через 6 та 12 місяців після введення суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку здійснюють контроль стану хворого за клінічними, лабораторними та інструментальними показниками.

Нами встановлено, що за рахунок введення принаймні двох запропонованих суспензій, що містять кріоконсервовані стовбурові клітини ембріофетального походження, з індивідуально підібраним оптимальним об'ємом та кількістю ядровмісних клітин в 1 мл суспензії, відповідно до корисної моделі, забезпечується підвищення рівня нормальної продукції функціонального дистрофіну та асоційованого з ним білкового комплексу у м'язових тканинах, що сприяє відновленню м'язових клітин та зменшенню некрозу м'язових волокон без подальшої заміни м'язової тканини жировою чи фіброзною, в результаті чого зменшується прогресування м'язової слабкості при високій ефективності лікування МДД в цілому. При цьому уповільнення прогресування м'язової дистрофії забезпечується за рахунок зменшення пошкодження сарколеми, яке виникає в результаті втрати механічної підтримки, що забезпечується дистрофіном. Це призводить до зменшення прояву окислювального стресу, який веде до загибелі м'язових клітин. В результаті - забезпечується покращення функціонального стану хворої дитини, її рухових можливостей, дихання та скоротливої функції серця. При цьому виключається необхідність підбору донора за антигенами гістосумісності та забезпечується можливість введення суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з фетального головного мозку повторно. Крім того, проведення премедикації перед введенням суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки дозволяє запобігти виникненню алергійних реакцій та запобігти відторгненню стовбурових клітин з фетальної печінки організмом хворих під час проведення лікування.

При цьому використання саме фетальної печінки та фетальної тканини головного мозку 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 стимулюючих речовин, таких як ангіогенний і нейротрофічний фактори, 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 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 клітин. Ці властивості дозволяють вводити клітини з фетальної печінки шляхом внутрішньовенної ін'єкції у вигляді суспензії [4, 5]. Ці характеристики можуть пояснити і підвищене виживання клітин і тканин фетальної печінки в порівнянні з дорослими після кріоконсервації.

Спосіб лікування м'язової дистрофії Дюшена препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин здійснюють таким чином.

Виготовляють два препарати у вигляді суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини з фетального головного мозку. Для цього в умовах операційної, з дотриманням правил асептики та антисептики, одержують ембріофетальний матеріал, а саме тканину печінки, тканину головного мозку фетусів людини від 5 до 12 тижнів гестації, які загинули внаслідок медичного абортів в випадках, коли вагітність переривали за соціальними показниками при відсутності патології розвитку чи інфікованості фетуса та наявності письмової інформованої згоди жінки - донора. Вилучені тканини ембріофетального походження поміщають в стерильне транспортне середовище розчину Хенкса з антибіотиком. 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 об'ємом 0,3-1,0 мл. Кріоконсервування суспензій клітин проводять у камері програмного заморожування за визначеною програмою. Таке кріоконсервування забезпечує практично необмежене довгострокове зберігання вказаних суспензій, дозволяє протягом необхідного часу дослідити препарати у вигляді суспензії на бактеріологічну та вірусологічну безпеку, визначити якісні та кількісні показники суспензій, сформувати банк суспензій стовбурових клітин, відповідно до визначених вимог до препаратів.

При формуванні банку суспензій з тканин ембріофетального походження для лікування хворих на МДД суспензія стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензія стовбурових клітин з головного мозку повинні мати такі параметри: вміст ядровмісних клітин (підрховують загальну кількість ядровмісних клітин в одиниці об'єму за допомогою клітинного аналізатора чи візуально під мікроскопом в лічильній камері) повинен становити не менше ніж $3,72 \times 10^6$ в 1 мл суспензії для клітин з фетальної печінки та не менше за $1,14 \times 10^6$ в 1 мл суспензії для клітин з головного мозку; вміст живих клітин після кріоконсервування - 70 %. Суспензії, що містять стовбурові клітини з фетальної печінки та клітини з головного мозку, зберігають в кріобанку в рідкому азоті при температурі -196 °C.

Пробірки, що містять суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку, безпосередньо перед введенням виймають з рідкого азоту, занурюють у водяну баню при температурі +37 °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 з фетального головного мозку при кімнатній температурі не повинен перевищувати 10 хвилин.

При цьому перед введенням вказаних суспензій здійснюють додатковий контроль якості суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії стовбурових клітин з фетального головного мозку, зокрема проводять мікроскопію та здійснюють підрхунок кількості життєздатних клітин за допомогою автоматичного клітинного аналізатора чи візуально під мікроскопом в лічильній камері.

Перед початком проведення лікування хворих на МДЦ шляхом введення суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку виконують клініко-неврологічне, лабораторне та інструментальне обстеження стану хворого та здійснюють контроль активності патологічного процесу за клінічними, лабораторними та інструментальними показниками. Далі перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки з метою запобігання виникненню алергійних реакцій під час лікування виконують премедикацію шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 15 мг преднізолону через систему для переливання крові. Після чого разом із фізіологічним розчином натрію хлориду вводять суспензію кріоконсервованих 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 $3,72 \times 10^6$ в 1 мл. Введення суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку здійснюють підшкірно в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $1,14 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення. Така кількість клітин забезпечує необхідну якість суспензій та достатня для отримання високої ефективності лікування хворих на МДЦ.

Після введення суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку хворий знаходиться під спостереженням. При цьому після проведення лікування через 6 і 12 місяців здійснюють контроль стану хворого за клінічними, лабораторними та інструментальними показниками. 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 МДЦ оцінюють за зменшенням прогресування м'язової слабкості, зокрема, покращенням рухових можливостей, дихання, скоротливої функції серця, якості життя та соціальної адаптації дітей.

Так, з 2004 по 2014 роки у клініці клітинної терапії було проліковано 137 хворих на МДЦ відповідно до способу лікування МДЦ, що заявляється. У всіх хворих спостерігався синдром раннього післяінфузійного покращення: відбувалося поліпшення сну, дихання, у деяких хворих збільшилась сила в руках (таблиця). 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 морфофункціональні характеристики серця (фракція викиду лівого шлуночка (ФВЛШ), кінцево-діастолічний об'єм (КДО)) та функціональні можливості легенів (форсована життєва ємкість легенів (ФЖЄЛ), об'єм форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ1) (див. табл.).

Таблиця

	ФВЛШ, %	КДО, мл	ФЖЄЛ, %	ОФВ1, %
Перед лікуванням	45,24±1,41	219,8±17,3	89,25±4,3	91,16±3,4
Через 6 місяців	52,42±1,61*	194,2±7,1*	94,18±2,5	95,25±2,7
Через 12 місяців	57,03±1,41**	181,1±9,3**	97,21±5,2**	98,24±2,8**

*-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 6 та 12 місяців спостерігалось статистично значуще покращення ФВЛШ 52,42±1,61 % через 6 місяців та 57,03±1,41 % через 12 місяців в порівнянні з показниками до лікування - 45,24 % та КДО (194,2±7,1, 181, ± 9,3 та 219,8±17,3 мл відповідно), p<0,05. В той час, як показники ФЖЄЛ та ОФВ1 - статистично значимо покращились лише через 12 місяців після лікування (97,21±5,2)% та (98,24±2,8)% відповідно в порівнянні з показниками до лікування (89,25±4,3)% та (91,16±3,4)% відповідно.

Також, після проведеного лікування спостерігалось покращення таких лабораторних показників, які відображають міоліз. Рівень показника аланінамінотрансфераза (АЛТ) через 6 місяців після лікування достовірно зменшився порівняно з показниками до лікування (з 1,58±0,19 Од/л до 0,94±0,10 Од/л), p<0,05. Показник аспартатамінотрансфераза (АСТ) через 6

місяців мав тенденцію до зменшення ($0,60 \pm 0,06$ Од/л через 6 місяців та $0,83 \pm 0,07$ Од/л до лікування), $p > 0,05$. Через рік після лікування АЛТ та АСТ достовірно знизились в порівнянні з показниками до лікування ($0,96 \pm 0,20$ Од/л і $0,54 \pm 0,07$ Од/л відповідно), $p < 0,05$. У пацієнтів з МДД спостерігається достовірне зниження креатинфосфокінази (КФК), починаючи з 6 місяця в порівнянні з показниками до лікування ($6583,4 \pm 58,21$ Од/л до лікування, $4012,3 \pm 41,15$ Од/л через 6 місяців, $2918,0 \pm 29,37$ Од/л через 12 місяців), $p < 0,05$. До лікування середній бал показника лактатдегідрогеназа (ЛДГ) дорівнював $526,4 \pm 18,24$ Од/л. Через 6 місяців після лікування спостерігається тенденція до зниження рівня ЛДГ ($379 \pm 21,14$ Од/л). Через 12 місяців цей показник достовірно знизився та становив $284 \pm 19,12$ Од/л, $p < 0,05$.

Корисна модель, що заявляється, пояснюється наступними прикладами.

Приклад 1. Хворий П., 1992 року народження, історія хвороби № 2122. Хворий знаходився в клініці клітинної терапії з метою лікування МДД. Хворіє з дитинства. При поступленні в стаціонар рівень АЛТ склав 120 Од/л, АСТ 132 Од/л, КФК 656 Од/л, ЛДГ 254 Од/л. ФЖЄЛ- 89,25 %, ОФВ1- 91,48 %, ФВЛШ 48,64 %, КДО 192,7 мл. На початку захворювання приймав медикаментозну терапію (L-карнітин, коензим Q10).

В неврологічному статусі: очні щілини, зіниці D=S, ністагму немає. Обсяг руху очних яблук повний. Гіпертрофія м'язів язика, макроглосія.

Сухожилкові рефлекс з рук, з ніг - не викликаються, ахілові D=S. Черевні рефлекс відсутні. М'язовий тонус в руках і ногах знижений. Виражені контрактири ліктьових, променезап'ясткових, колінних і гомілковостопних суглобів. Деформація грудної клітки, асиметрія сосків, лопаток. Гіпотрофія м'язів передпліч, плечового поясу, ніг. Еквіноварусна деформація стоп. Підвищена пітливість рук, стоп. Патологічних рефлексів не виявлено.

Перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки хворому була проведена премедикація шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 15 мг преднізолону. Введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки в об'ємі 4,0 мл шляхом внутрішньовенного крапельного введення та введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку підшкірно в об'ємі 2,3 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки: зразок R119109, вік фетуса - 9 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин - $89,5 \times 10^6$ в 1 мл. Характеристика введеної суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку: зразок R119209, вік фетуса - 9 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин - $8,14 \times 10^6$ в 1 мл.

У перші кілька діб після введення вказаних суспензій спостерігався синдром раннього післяінфузійного покращення, який проявлявся покращенням сну та апетиту, збільшенням рухових можливостей дитини, покращенням дихання.

Через 6 місяців після вказаного лікування у пацієнта спостерігали розширення рухових можливостей, покращення якості життя, дихання, скоротливої функції серця. Рівень АЛТ склав 80 Од/л, АСТ 91 Од/л, КФК 421 Од/л, ЛДГ 212 Од/л. ФЖЄЛ -93,14 %, ОФВ1-94,21 %, ФВЛШ 48,92 %, КДО 181,7 мл.

Приклад 2. Хворий R., 2000 року народження, історія хвороби № 978. Знаходився в клініці клітинної терапії з метою лікування МДД. Діагноз був поставлений у дитинстві. При поступленні в стаціонар рівень АЛТ становив 97 Од/л, АСТ 105 Од/л, КФК 676 Од/л, ЛДГ 276 Од/л. ФЖЄЛ- 91,65 %, ОФВ1-95,68 %, ФВЛШ 47,64 %, КДО 203,5 мл. На початку захворювання приймав медикаментозну терапію (L-карнітин, коензим Q10), проходив заняття ЛФК, курси масажу.

В неврологічному статусі: очні щілини, зіниці D=S, ністагму немає. Обсяг руху очних яблук повний. Язик по середній лінії.

Сухожилкові рефлекс з рук, з ніг - не викликаються, ахілові D=S. Черевні рефлекс відсутні. М'язовий тонус в руках і ногах знижений. Виражені контрактири ліктьових, гомілковостопних суглобів. Початкова деформація грудної клітки. Гіпотрофія м'язів передпліч, плечового поясу, ніг. Патологічних рефлексів не виявлено. Збережені активні рухи в руках, може підняти їх на рівні плечей. Може зігнути ноги в колінних суглобах.

Перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки хворому була виконана премедикація шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 15 мг преднізолону. Далі було введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки в об'ємі 3,4 мл шляхом внутрішньовенного крапельного введення та було введено суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку підшкірно в об'ємі 2,1 мл. Характеристика введеної суспензії стовбурових клітин з фетальної печінки: зразок M400106, вік фетуса - 6 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин - $63,2 \times 10^6$ в 1 мл. Характеристика введеної суспензії стовбурових клітин з фетального головного мозку: зразок M400206; вік фетуса - 6 тижнів гестації; кількість ядровмісних клітин - $8,12 \times 10^6$ в 1 мл.

У перші кілька діб після введення вказаних суспензій спостерігався синдром раннього післяінфузійного покращення, який проявлявся покращенням сну та апетиту, збільшенням рухових можливостей дитини, покращенням дихання.

Через 6 місяців після вказаного лікування у пацієнта відмічено розширення рухових можливостей, покращення якості життя, дихання, функції серця. Рівень АЛТ становив 68 Од/л, АСТ 82 Од/л, КФК 411 Од/л, ЛДГ 204 Од/л. ФЖЕЛ - 94,85 %, ОФВ1-98,21 %, ФВЛШ 49,13 %, КДО 173,4 мл.

Отже, запропонований спосіб лікування МДД препаратами з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин дозволяє підвищити ефективність лікування при зменшенні прогресування м'язової слабкості без необхідності підбору донора за антигенами гістосумісності. В результаті - уповільнюється прогресування захворювання, покращуються рухові функції, дихання, скоротлива функція серця, якість життя та соціальна адаптація дитини до зовнішнього середовища.

Джерела інформації:

1. Баранов В.С., Баранов А.Н., Зеленин А.В. Современное состояние и перспективы генной терапии миодистрофии Дюшенна в мире и России. //Генетика. - 2009. - Т. 37, № 8. - С. 1046-1053.
2. Михайлов В.М. и др. // Цитология, 1998. №40(5). - С. 394-400. 15.
3. Duboc D. et al. Perindopril preventive treatment on mortality in Duchenne muscular dystrophy: 10 years'followup. // J.American Heart Journal 154, 2007; 596-602.
4. Jeffrey S. Chamberlain Gene therapy of muscular dystrophy //Human Molecular Genetics.- 2002.- Vol. 11.-No.20.-p.2355-2362.
5. Farini A. et al. Stem cell from human adipose tissue //J. Cell Physiol. - 2009. - № 221 (3). - P. 526-534.
6. Matsuda R1, Nishikawa A, Tanaka H. Visualization of dystrophic muscle fibers in mdx mouse by vital staining with Evans blue: evidence of apoptosis in dystrophin-deficient muscle. //J. Biochem. - 1995. - № 118(5). - P. 959-64.
7. Tidball J.G. et al. Myonuclear apoptosis in dystrophic mdx muscle occurs by perforin-mediated cytotoxicity. //J Clin Invest. - 1997. - № 99 (11). - P. 2745-2751.
8. Spencer M.J. et al. Myonuclear Apoptosis in Dystrophic mdx Muscle Occurs by Perforin-mediated Cytotoxicity//J. Clin. Invest. - 1999. - P. 2745-2751.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб лікування м'язової дистрофії Дюшенна, що включає приготування та введення препаратів з матеріалу ембріофетального походження та виділених з нього клітин у вигляді суспензії, яка містить стовбурові клітини, який **відрізняється** тим, що виготовляють та вводять принаймні два препарати у вигляді суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин, виділених з матеріалу фетуса людини 5-12 тижня гестації, одна з яких містить стовбурові клітини з фетальної печінки, а друга суспензія містить стовбурові клітини з фетального головного мозку, причому суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки вводять шляхом внутрішньовенного введення в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $3,72 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, а суспензію кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку вводять підшкірно в об'ємі не меншому за 0,1 мл з кількістю ядровмісних клітин не менше за $1,14 \times 10^6$ в 1 мл за одне введення, причому перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки додатково виконують премедикацію.
2. 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.
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що премедикацію виконують шляхом внутрішньовенного введення 10 мг димедролу і 15 мг преднізолону.
4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед введенням суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку додатково виконують клініко-неврологічне, лабораторне та інструментальне обстеження стану хворого.
5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що перед проведенням лікування та через 6 і 12 місяців після введення суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетальної печінки та суспензії кріоконсервованих стовбурових клітин з фетального головного мозку здійснюють

контроль активності патологічного процесу за клінічними, лабораторними та інструментальними показниками.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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