

ОБЗОРЫ

Клеточная терапия при травме головного мозга

А.С. Григорян, П.В. Кругляков
ООО «Транс-Технологии», Санкт-Петербург

Cell therapy for treatment of traumatic brain injury

A.S. Grigorian, P.V. Kruglyakov
Trans-Technologies Ltd., Saint-Petersburg

Травма головного мозга (ТГМ) до настоящего времени остается серьезной проблемой медицины. Фармакотерапия может замедлить нейродегенеративные процессы, сопутствующие повреждению, и частично снизить выраженность вызванных им симптомов, однако не способна привести к полному восстановлению когнитивных и моторных функций у пациента при тяжелой травме, а также обеспечить регенерацию нервной ткани в поврежденной области. Альтернативой лекарственным препаратам является клеточная терапия с применением различных видов стволовых клеток, способных продуцировать необходимые факторы роста и нейротрофины, дифференцироваться в нейроны и клетки глии, а также стимулировать пролиферацию и дифференцировку собственных нейропрогениторных клеток реципиента. Обзор посвящен анализу данных о существующих на сегодняшний день подходах к клеточной терапии ТГМ, при этом акцент сделан на трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) костного мозга.

Ключевые слова: клеточная терапия, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, нейральные стволовые клетки, нейротрансплантация, травма головного мозга.

Введение

Травма головного мозга (ТГМ) является серьезной медицинской проблемой и может приводить к инвалидизирующим или несовместимым с жизнью физиологическим нарушениям. При ней всегда страдает не только ткань непосредственно в зоне повреждения, но и нейроны и их отростки, расположенные в незатронутых областях, что приводит к частичному или полному разрушению проводящих путей мозга, провоцирующему многочисленные отдаленные последствия повреждения. В отличие от различного рода патологических процессов, травма затрагивает все возрастные категории, по большей части детей и подростков, ведущих активный образ жизни [1].

Пациенты, выжившие после тяжелой ТГМ, нуждаются в интенсивной терапии [2]. Выборочная стимуляция экспрессии некоторых генов (например, генов нейротрофических факторов) и активация репарационных процессов, таких как нейрогенез и синаптогенез, может способствовать репаративному ремоделированию нервной ткани и частичному улучшению поведенческих и когнитивных функций [3].

К сожалению, ни один из общепринятых подходов к терапии ТГМ не приводит к полному выздоровлению пациентов, и в основном применяемые методы (фармакологические, физиотерапевтические и проч.) направлены на сохранение еще не затронутых разрушительными процессами структур, в частности, краевой зоны повреждения (пенумбры) [4]. Задача посттравматической

Traumatic brain injury (TBI) is still a serious clinical problem. The conventional pharmacological methods for TBI treatment are able to slow down the concomitant neurodegeneration, and to partially attenuate the symptoms of trauma, but they do not provide complete motor and cognitive recovery from serious injury, or promote functional regeneration of neural tissue in the injury site. Cellular therapy with different kinds of stem cells, which are able to secrete a vast number of growth factors and neurotrophins, to differentiate into neurons and glial cells and to stimulate the proliferation and differentiation of recipient's own neuroprogenitors, is the alternative to pharmacological approach. The aim of this review is to analyze the existing data about cellular therapy for treatment of TBI, especially about the treatment with the use of bone marrow mesenchymal stem cells (MSC).

Key words: cell therapy, multipotent mesenchymal stem cells, neural stem cells, neurotransplantation, traumatic brain injury.

терапии – активация компенсационных и регенеративных процессов, таких как:

- препятствование апоптозу нейронов и глиальных клеток, располагающихся в пенумбре;
- миграция в зону повреждения и дифференцировка собственных нейральных предшественников, располагающихся в зубчатой извилине гиппокампа и субвентрикулярной зоне [5];
- способствование синаптогенезу;
- активация продукции клетками реципиента нейротрофинов и ростовых факторов, обладающих нейротекторным эффектом;
- снижение в зоне повреждения активности воспалительных процессов.

Относительно различных методов клеточной терапии в научной литературе накопилось довольно много данных, позволяющих сделать хотя бы предварительные выводы об их достоинствах, недостатках и в целом о возможности применения в случае ТГМ. Основное внимание уделено терапии последствий ТГМ с помощью мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) красного костного мозга.

Подходы к терапии ТГМ

Преимущества клеточной терапии

Большое количество научной литературы, посвященной ТГМ, свидетельствует о том, что даже дефинитивный головной мозг остается высоко динамичной структурой,

в которую возможно активно вмешиваться в случае нарушений ее функционирования и при повреждениях, воздействуя на происходящие в ней регенеративные процессы [1, 6]. Представление о головном мозге как о динамичной, постоянно изменяющейся и способной к регенерации системе было сформулировано более полувека назад Дональдом Хеббом (Donald Hebb), который постулировал, что синапсы, активно проводящие нервные импульсы, сохраняются в составе нервной ткани, в то время как неиспользуемые контакты нервных клеток атрофируются и исчезают [7].

Впоследствии она была принята и расширена, однако единственным общепринятым клиническим методом вмешательства в процессы пластичности на сегодняшний день остается фармакотерапия. Существует несколько вариантов специфической (направленной на сохранение и возможную регенерацию нейронов и глии) фармакотерапии при инсультах и ТГМ и, соответственно, несколько классов применяющихся при этом препаратов [4, 8–16]:

Все эти препараты, кроме нейротрофических и ростовых факторов, не показали эффективности в терапии у пациентов, страдающих от последствий ТГМ. Альтернативой фармакотерапии является трансплантация фетальной нервной ткани и клеточная терапия. Они стали также незаменимыми инструментами фундаментальных исследований структурно-функциональных связей в мозге, эмбрионального нейрогенеза, нейропластичности и регенерации нервной ткани [17]. При этом можно сформулировать ряд преимуществ клеточной терапии перед фармакотерапией:

- трансплантаты способствуют анатомической реконструкции поврежденной ткани;
 - клетки, содержащиеся в трансплантате, могут образовывать функциональные связи с тканью реципиента;
 - клетки в трансплантате могут продуцировать большое количество различных нейротрофинов и ростовых факторов в физиологических концентрациях, необходимых для регенерации нервной ткани [18, 19];
 - экзогенные клетки стимулируют собственные клетки реципиента к продукции нейротрофинов и ростовых факторов [18];
 - взаимодействия собственных нейронов и глиальных клеток реципиента с трансплантированными клетками динамичны и зависимы от микроокружения;
 - трансплантированные клетки могут мигрировать в зону повреждения [19–21];
 - некоторые типы клеток, такие как ММСК, при трансплантации могут снижать интенсивность воспалительной реакции в зоне повреждения [22].
- Таким образом, клеточная терапия предполагает не только активацию эндогенных восстановительных механизмов. Терапевтический агент (трансплантированные клетки) в данном случае сам активно взаимодействует с тканью реципиента, обеспечивая пролонгированный лечебный эффект.

Нейротрансплантация

Трансплантация тканей фетального мозга

Первые опыты по нейротрансплантации проводились с целью коррекции дефицита нейротрансмиттеров (таких как ацетилхолин, дофамин, норадреналин и серотонин), возникающего в процессе некоторых нейродегенеративных заболеваний, а также при травматических повреждениях мозга. Наиболее показательным примером можно считать трансплантацию фетальных дофаминэргических нейронов, получаемых из мезэнцефалона, в повреж-

денный стриатум для коррекции моторных дисфункций. При этом был показан высокий уровень выживаемости и функциональной активности трансплантированных клеток, в особенности у пациентов не старше 60 лет [23].

Нейротрансплантация весьма динамично развивается как в отношении заболеваний, так и ТГМ, так как травма может порождать целый спектр моторных и когнитивных расстройств, сходных с симптомами некоторых заболеваний ЦНС (например, синдром Паркинсона). Известно также, что травма часто приводит к расстройству передачи нервных импульсов, опосредованных ацетилхолином и норадреналином, что, в свою очередь, становится причиной потери пространственной памяти [24].

Ацетилхолин и норадреналин – основные нейромедиаторы, на уровни которых обращают внимание исследователи при фетальной нейротрансплантации. В 1987 г. была проведена трансплантация фетального неокортекса после экспериментального повреждения префронтальной коры у крыс. При анализе результата авторы работы обнаружили, что нейроны из трансплантата образовывали связи с рядом подкорковых структур, включая черную субстанцию, голубоватое пятно и базальное крупноклеточное ядро [25]. Все эти области характеризуются регенеративным потенциалом в случае повреждений мозга и высокой продукцией норадреналина и ацетилхолина, а также дофамина [26].

Помимо этого есть большое количество данных о том, каким образом нейротрансплантация корректирует дефицит нейротрофических и ростовых факторов, таких как NGF (nerve growth factor), BDNF (brain derived neurotrophic factor) и bFGF (basic fibroblast growth factor), возникающий при ТГМ. Все эти факторы в норме поддерживают выживание нейронов, рост аксонов и дендритов, регулируют процессы миграции нейрогенных клеток. Известно, что в ответ на травму концентрация некоторых ростовых факторов возрастает, что способствует процессам восстановления разрушенных функциональных связей [27]. Однако этого оказывается недостаточно для удовлетворительного восстановления пациента после травмы.

Гипотеза о нейротрофическом эффекте трансплантатов посредством продукции ростовых факторов возникла после опытов по трансплантации тканей фетального мозга крысам с аспирационным повреждением коры больших полушарий. Было показано, что трансплантаты хорошо сохраняются в зоне повреждения и продуцируют ряд нейротрофинов, а также ускоряют восстановление поведенческих функций [28, 29]. Использование фетальных тканей имеет ряд преимуществ перед использованием отдельных нейротрофинов:

- нейротрансплантат может секретировать широкий спектр нейротрофических факторов в физиологических концентрациях, адекватных происходящим в зоне повреждения изменениям;
- клетки производят нейротрофические факторы в течение долгого времени, что выгодно отличает трансплантацию от единичной инъекции ростовых факторов, обеспечивая пролонгированный эффект терапии;
- взаимодействие трансплантата с тканью реципиента может быть функциональным и динамическим.

Научной группой A. Wennersten в 2004 г. был проведен эксперимент по трансплантации непосредственно в зону травмы фетальных нейронов человека крысам с функциональной иммунной системой после повреждения коры больших полушарий [30]. Через 2 и 6 нед. после трансплантации было показано, что трансплантированные

клетки располагаются в краевой зоне повреждения, гиппокампе, мозолистом теле мозга и в субependимной зоне ипсилатерального полушария. Более того, эти клетки экспрессировали нейрональный маркер NeuN (neuron-specific nuclear protein, ядерный белок дифференцированных нейронов) и астроцитарный маркер GFAP (glial fibrillary acidic protein). Была также проведена проверка на дифференцировку клеток в олигодендроциты (по маркеру NG2), но, как обнаружилось, в олигодендроциты трансплантированные клетки никогда не дифференцировались, и причина этого остается неясной. Следует также отметить, что в данной работе авторы использовали фетальные клетки, долгое время перед трансплантацией хранившиеся в жидком азоте.

Интересно, что при достаточно широком спектре работ, в которых производились трансплантации тканей фетального мозга, существует единственное исследование, в котором с помощью проточной цитофлуориметрии была охарактеризована клеточная популяция, полученная из фетального мозга человека. Р.А. Полтавцева с соавт. (2002) показали, что нейральные клетки-предшественницы представляют собой гетерогенную популяцию, в которой сильно варьируют уровни различных нейрональных маркеров [31].

Полтавцева Р.А. и ее коллеги сочли, что для трансплантации подходит эмбриональный материал, характеризующийся следующим фенотипом: не менее 25% nestin⁺ клеток / не менее 25% vimentin⁺ / не более 10% GFAP⁺ / не более 15% NeuN⁺ / не более 15% CD56⁺ / не более 15% N-Cad⁺ клеток. Клеточные популяции с таким фенотипом на седьмые сутки культивирования *in vitro* формировали нейросферы, однако в дальнейшем авторы не проводили с охарактеризованными клетками никаких экспериментов *in vivo*. Таким образом, вопрос о детальной характеристике клеток, используемых в целях нейротрансплантации, требует дальнейшего изучения, но очевидно, что их использование при ТГМ обладает мощным терапевтическим эффектом.

Следует упомянуть работы отечественных авторов, в которых проводились трансплантации фетального материала. В России опыт применения нейральных стволовых клеток для лечения ТГМ весьма скромнен [32, 33]. О.В. Парлюк и соавт. был в 2008 г. проведен ряд трансплантаций малодифференцированных нейральных и кроветворных клеток больным с тяжелыми черепно-мозговыми травмами [34]. Было показано, что клеточная терапия почти в 4 раза снижала число неблагоприятных исходов и хорошее восстановление почти у половины пациентов, участвовавших в клинических испытаниях. Авторы приводят убедительные данные, подтвержденные статистическими расчетами.

Трансплантация нейральных стволовых клеток (НСК)

Трансплантация НСК наиболее привлекательна с той позиции, что клетки-предшественницы нервной ткани с наибольшей вероятностью могут пролиферировать, мигрировать и дифференцироваться, образуя функциональные связи с нейронами реципиента, так как в случае трансплантации попадают в физиологичное для них микроокружение. Известны успешные эксперименты по трансплантации НСК животным, не подвергавшимся предварительной иммуносупрессии. В 2002 г. было показано, что аллогенные нейральные предшественники (НСК), полученные из эмбриональных стволовых клеток и обладающие способностью дифференцироваться

в нейроны и глию, хорошо приживаются при трансплантации мышам с экспериментальной ТГМ в острой фазе развития симптомов (инъекции клеток проводились через трое суток после операции) [35]. Поведенческие тесты выявили существенные улучшения восстановления когнитивных и моторных функций ЦНС у животных с проведенной нейротрансплантацией.

При этом трансплантация НСК как в ипсилатеральное, так и в контралатеральное полушарие улучшала функциональное восстановление животных с ТГМ, хотя и в разной степени, и в целом трансплантации в контралатеральное полушарие были более успешны. В ипсилатеральном полушарии и гиппокампе клетки дифференцировались в нейроны и астроцитарную глию, а в контралатеральном полушарии они демонстрировали исключительно нейрональный фенотип. Авторы предположили, что это связано с дефицитом в зоне повреждения как нейронов, так и глии. В более ранних работах было также показано, что при травме головного мозга основная потеря клеток происходит непосредственно в зоне повреждения, в зоне противоудара, в базальных ядрах, а также в гиппокампе [36, 37]. Работ по восстановлению этих областей в результате клеточной терапии, к сожалению, не проводилось, что, возможно, связано со сложностью анализа и интерпретации результатов. Вместе с тем это представляется крайне важным, так как неясные повреждения могут играть основную роль в отдаленных последствиях ТГМ.

Трансплантация нейропрогениторных клеток гиппокампа

Гиппокамп, по предположениям многих исследователей, предоставляет наиболее благоприятное для трансплантированных НСК молекулярное микроокружение, так как содержит «взрослые» мультипотентные стволовые клетки нервной ткани, и в нем возможен процесс нейрогенеза как при повреждении, так и в условиях физиологической нормы [38–41]. Преимущества использования для трансплантации взрослых НСК, в частности, клеток гиппокампа, перед трансплантацией фетальной ткани, следующие.

1. Способность НСК гиппокампа к самообновлению и дифференцировке в нейрональном и глиальном направлении, осуществляя репопуляцию разрушенных тканей мозга [42, 43].

2. Способность продуцировать растворимые (например, ростовые факторы) и нерастворимые (например, молекулы межклеточной коммуникации) факторы [44].

3. Возможность генетически модифицировать НСК, индуцируя продукцию ими факторов, таких как NGF, bFGF и IGF-1 (insulin-like growth factor-1), предотвращающих развитие тяжелых последствий ТГМ и обеспечивающих эффективную регенерацию поврежденной ткани [45–48].

Существует ряд работ, выполненных российской группой исследователей, по трансплантации клеток фетального гиппокампа в мозг экспериментальных животных [49]. Авторам удалось продемонстрировать интеграцию трансплантированных клеток в нервную ткань реципиента, формирование ими функциональных аксонов и дендритов.

Несмотря на перечисленные положительные стороны, применение клеток гиппокампа имеет ограничения, сводящие данный метод нейротрансплантации к лабораторным экспериментам и фундаментальным исследованиям — это сложность получения донорского материала и недостаточное его количество.

Трансплантация NT2-клеток

Отдельный интерес в отношении нейротрансплантации представляет трансплантация клеток коммерчески доступной линии NT2 (NTera2), получаемой путем дифференцировки клеток тератокарциномы человека в клетки с нейрональным фенотипом [50]. *In vivo* эти клетки способны дифференцироваться в функциональные нейроны [50–52], а при трансплантации их в поврежденный мозг крыс с нормальной иммунной системой они выживают в течение более чем четырех нед., экспрессируя характерные нейрональные маркеры. В случае иммуносупрессии их сохранность в тканях мозга продолжается до двенадцати нед., а при интеграции в нервную ткань мышей с экспериментально индуцированным иммунодефицитом гомогенная популяция NT2 клеток сохраняет свою функциональную активность более года [50, 51]. Эти клетки не формируют опухолей *in vivo* по крайней мере в течение года после трансплантации как мышам, так и человеку [53–55]. В 2005 г. было показано, что клетки NT2 при трансплантации крысам способствуют восстановлению поведенческих и когнитивных функций животных не больше, чем инъекция в краевую область повреждения фибробластов, служивших в качестве контроля. Негативных побочных эффектов также отмечено не было [56].

Возможно, что NT2 клетки имеют определенные преимущества перед фетальными тканями и НСК, полученными путем дифференцировки эмбриональных клеток, поскольку, во-первых, представляют собой гомогенную популяцию, которая может интегрироваться в нервную ткань. Во-вторых, использование этих клеток снимает вопрос о допустимости использования фетальных тканей с этической точки зрения. Их также возможно трансфенировать генами нейротрофических факторов [57].

Совместная трансплантация различных типов клеток в терапии ТГМ

Успех трансплантации после травмы во многом зависит от выживания трансплантированных клеток в зоне повреждения, где они с большой вероятностью подвергаются апоптозу [58]. Известно о попытках совместной трансплантации нейронов, выделенных из среднего мозга, и фетальных мышечных клеток в поврежденный стриатум крыс [59]. В своей работе авторы сначала *in vitro* показали, что лизаты мышечных волокон скелетной мускулатуры повышают в нейронах среднего мозга (мезэнцефалона) уровень фермента тирозиновой гидроксилазы, опосредуя через нее защиту клеток от апоптотической гибели. *In vivo* этот эффект был подтвержден, и было показано, что смешанный трансплантат приводит к лучшему в сравнении с трансплантацией только нейральных клеток результату, с большим успехом корректируя поведенческие нарушения, возникающие из-за травмы.

Интересный эксперимент по совместной трансплантации нейронов и ММСК костного мозга был выполнен исследователями из Оклендского университета (США) в 2002 г. [60].

В эмбриогенезе предшественники нейронов находятся в специфическом микроокружении, необходимом для их пролиферации и дифференцировки, но которое отсутствует в дефинитивном мозге. Для создания же оптимальных условий регенерации нервной ткани теоретически должны быть воссозданы условия ткани эмбриональной. Также известно, что ММСК костного мозга секретируют широкий спектр ростовых факторов, в том числе участвующих в нейрогенезе [61–63]. Основываясь на этих данных, D. Lu и соавт. предположили, что

сокультивирование ММСК с нейросферами, полученными из фетальных предшественников нейронов, может способствовать выживанию и пролиферации, а также дифференцировке нейрогенных клеток, а совместная трансплантация этих клеток приведет к улучшению результатов терапии.

Эксперимент был спланирован следующим образом: нейросферы в течение 7 сут. сокультивировали с ММСК крысы (соотношение ММСК:предшественники нейронов было при этом примерно 1:50). Затем такие ММСК-нейросферы трансплантировали непосредственно в область травмы спустя 24 ч. после ее нанесения.

Результаты проанализированы поведенческими тестами, а также с помощью гистологического анализа (иммуногистохимической окраски на нейрональные и глиальные маркеры авторы не проводили, между тем, это могло бы позволить интерпретировать дифференцировку клеток нейросфер). Обнаружилось, что ММСК-нейросферы способствуют гораздо более быстрому восстановлению животных после травмы; были выявлены статистически значимые улучшения прохождения поведенческих тестов и лучшая сохранность нервной ткани. Также отметим, что из 9 крыс, получивших трансплантацию обычных нейросфер, сохранность трансплантата была отмечена лишь в 3-х случаях, в то время как у всех без исключения животных, получивших ММСК-нейросферы, трансплантаты оказались сохранены на всех сроках анализа.

При описании данного эксперимента следует остановиться еще на одном важном моменте. Анализ обычных нейросфер и ММСК-нейросфер показал, что на четвертый день культивирования в обычных нейросферах начинается гибель (так называемая «кавитация», или образование «некротической» полости), а в ММСК-нейросферах такого не происходит. По-видимому, ММСК действительно предоставляли нейральным клеткам необходимое для их выживания и питания микроокружение, увеличивая шансы трансплантата на выживание и, соответственно, повышая его эффективность.

Трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК)

В работе, выполненной в 1998 г., авторы провели трансплантацию ММСК в неповрежденный мозг крыс и показали, что подобные трансплантаты по своим свойствам очень сходны с трансплантатами фетальных астроцитов [64]. Для астроцитарных трансплантатов ранее было показано, что они способны к миграции в ткани реципиента и функциональной интеграции в них, то есть к образованию контактов с нейронами реципиента и участию в создании гематоэнцефалического барьера [65]. Сходным образом около 20% трансплантированных ММСК также приживаются в ткани реципиента, не вызывая воспалительной реакции, и активно мигрируют, обнаруживаясь в стриатуме, мозолистом теле и коре больших полушарий [64].

Наибольшее число работ, связанных с трансплантацией ММСК после экспериментальной ТГМ, инсульта и болезни Паркинсона, было выполнено группой исследователей под руководством М. Чоппа (M. Chopp), которая занимается разработкой данной проблемы с 1998 г. Одной из главных причин выбора ММСК для такого рода исследований является секреция этими клетками ряда ростовых факторов как *in vivo*, так и *in vitro* [65, 66]. С помощью иммуноферментного анализа исследователи проанализировали спектр ростовых факторов, содержащихся в питательной среде, где культивировали ММСК,

и обнаружили в ней факторы HGF, NGF, BDNF, bFGF, и VEGF, необходимые для нейро- и глиогенеза. При этом добавление в среду некоторых веществ, например, ретиноевой кислоты, или изменение концентрации ионов кальция, могло изменять и концентрации продуцируемых ММСК факторов.

Для проверки влияния ММСК на продукцию ростовых факторов клетками реципиента в зоне повреждения после ТГМ, был проведен эксперимент по внутривенной трансплантации ММСК крысам через 24 ч. после нанесения повреждения. Результаты были проверены посредством анализа экстрактов мозга экспериментальных животных. Через 4–7 сут. было зарегистрировано существенное повышение концентрации NGF, через 7 суток — BDNF, а уровень bFGF не изменялся в сравнении с контрольной группой вовсе. Иммуногистохимический анализ показал, что на 14-е сут. после инъекции ММСК как трансплантированные клетки, так и нейроны реципиента в краевой зоне повреждения продуцируют повышенные уровни NGF, BDNF и bFGF. Положительный результат был подтвержден поведенческими тестами (тесты в водном лабиринте Морриса, тест «открытое поле» и др.) [1].

Существует достаточно много работ по трансплантации ММСК после ТГМ, хотя эти работы принадлежат небольшой группе исследователей. Помимо экспериментов *in vitro* по продукции ростовых факторов было показано, что ММСК при внутривенной трансплантации крысам с повреждением мозга повышают продукцию NGF, BDNF и bFGF нейронами в краевой зоне повреждения [67], и, по-видимому, за счет этого активируют пролиферацию и способствуют миграции предшественников нейронов, изначально находящихся в нервной ткани [68].

ММСК мигрируют в краевую зону повреждения как при системном, так и при местном способе инъекции, снижают в зоне травмы выраженность воспалительной реакции, в случае их аллогенного или ксеногенного происхождения не провоцируют иммунологического отторжения и в течение долгого времени сохраняются в организме реципиента, продолжая продуцировать ростовые факторы и цитокины [69, 70].

Также существуют данные, касающиеся трансплантации ММСК, предварительно культивировавшихся в присутствии нейротрофинов, таких как NGF и BDNF, что увеличивало их пролиферативную активность и способность к миграции, а также повышало экспрессию нейрональных маркеров, таких как NeuN и MAP-2 [71, 72].

В область травматического повреждения коры головного мозга крысам инъекцировали фибриновый гель, заселенный ММСК и содержащий ростовой фактор bFGF. При этом было отмечено значимое снижение апоптоза трансплантированных клеток, статистически значимое уменьшение объема посттравматической кисты в мозге, образовавшейся в результате травмы; значительно лучше была и сохранность пенумбры, где было снижено количество апоптотических телец. В сравнении с ММСК в фибриновом геле, трансплантация которых служила в качестве одной из групп контроля, bFGF улучшал результаты [73]. Этот подход интересен и тем, что в данном случае была сделана попытка частичного восстановления ткани, утраченной в результате травмы, которая в обычном случае навсегда остается невосполненной — иначе говоря, при любом методе лечения, кроме трансплантации некой трехмерной оформленной структуры, на месте зоны повреждения остается киста, окруженная глиальным рубцом и заполненная ликвором. До настоящего времени не было предложено иных

подходов, с помощью которых можно было бы полностью ее ликвидировать. Возможно, трансплантация клеток на каком-либо естественном либо искусственном носителе (трехмерном матриксе), должна стать в будущем решением данной проблемы.

Дифференцировка ММСК в функционирующие нейроны и глию

Положительный эффект трансплантации ММСК логично объяснить дифференцировкой этих клеток в функционирующие нейроны и глию, которые замещают погибшие в результате травмы клетки. Это кажется очень привлекательным объяснением — если оно оправдывается, то можно будет получать аутогенные нейроны и глию пациента в большом количестве, не завися от аллогенных донорских НСК или аллогенных фетальных тканей. Однако доказать справедливость подобного предположения на практике весьма сложно. Некоторые авторы сообщают об успешной интеграции ММСК в нервную ткань *in vivo* и их дифференцировке в нейроны [74], в то время как другие заявляют, что те немногие ММСК, которые интегрируются в нервную ткань при трансплантации, в действительности вовсе не дифференцируются в нейроны, но сливаются с клетками реципиента (феномен «cell fusion»), что также нельзя считать отрицательным результатом с точки зрения терапии [75, 76].

Три года назад научная группа N. Bertani весьма убедительно показала, что, во-первых, индукция морфологических изменений в ММСК различными «нейрогенными» агентами, такими, например, как диметилсульфоксид (DMSO) или бутил-гидроксианизол (BHA) не специфична для ММСК, и первичные фибробласты под их действием демонстрируют такие же морфологические изменения. Во-вторых, с помощью анализа экспрессии генов было показано, что в стандартных условиях культивирования ММСК экспрессируют широкий спектр генов, считающихся маркерами большого числа специализированных клеточных популяций — в том числе нестин — маркер предшественников нейронов, а при «нейрональной дифференцировке» экспрессия генов в них изменяется не больше, чем в использованных в качестве контроля первичных гепатоцитах [77].

Относительно спонтанной экспрессии нейрональных маркеров (нестин, β -III-тубулин, нейрофиламент-M и маркер олигодендроцитов S100- β) независимыми исследователями были получены идентичные результаты, хотя при трансплантации в латеральные желудочки мозга отдельные ММСК все же мигрировали в обонятельные луковицы, интегрируясь в нервную ткань без признаков слияния с клетками реципиента [78]. Относительно же спектров экспрессии генов недавно было показано, что при индукции нейрональной дифференцировки в ММСК статистически значимо в сравнении с исходным уровнем повышаются уровни экспрессии генов, продукты которых связаны с осуществлением характерных для нейронов функций (синаптотаксин, фосфолипаза D1, синтаксин 1A, BDNF) — но в данной работе, выполненной значительно позже, не было контроля воздействия нейрогенных условий культивирования на другие клетки, помимо ММСК, что вынуждает усомниться в доказательности результата [79].

В том же году еще в одной независимой лаборатории было подтверждено, что ММСК в стандартных для них условиях культивирования экспрессируют некоторый спектр нейрональных маркеров, а также маркер астроцитарной глии GFAP (glial fibrillary acidic protein). Небольшой процент ММСК экспрессирует также нестин,

и при культивировании с нейрональными ростовыми факторами процент нестин-положительных клеток увеличивался. Такие ММСК продуцировали факторы NGF, BDNF и GDNF и после трансплантации крысам в латеральный желудочек мозга прикреплялись к выстилающим полость желудочка эпендимоцитам, после чего мигрировали в ткань мозга. Выполняли ли они там какие-либо функции, характерные для нейронов или глии — неизвестно [80].

Несмотря на не согласующиеся друг с другом результаты исследований в этой области, в последние годы появляется все больше работ, авторы которых пытаются доказать возможность дифференцировки ММСК в нейроны как *in vitro*, так и *in vivo*. В 2007 году научная группа под руководством P.F. Choong [81] провела серию экспериментов по культивированию ММСК человека в среде с добавлением определенных ростовых факторов: BDNF, EGF (epidermal growth factor), и NGF. Исследователи сообщили, что после 10 сут. культивирования в таких условиях «ММСК демонстрировали нейрональную форму» (что, как уже упоминалось, может быть следствием неспецифической перестройки цитоскелета) и экспрессировали характерные для нейронов маркеры: GAP-43 (growth associated protein-43), NeuN и neurofilament-200. Эти маркеры указывают на ранние стадии нейрональной дифференцировки, но, опять же, могут экспрессироваться ММСК и при обычных условиях культивирования. Похожие результаты были получены в том же году в другой лаборатории, где ММСК мышей культивировали в характерных для НСК условиях. Более того, в цитоплазме таких клеток в ответ на нейростимуляцию возрастала концентрация ионов кальция, что указывает на возможность передачи ими нервного импульса, и это является уже более весомым доказательством нейрональной дифференцировки [82]. Следует отметить, что это не первое свидетельство функциональности полученных из ММСК «нейронов» — существует весьма убедительная работа, в которой с помощью метода «patch-clamp» была показана генерация такими «нейронами» потенциала действия на мембране после культивирования ММСК в присутствии ретиновой кислоты [83].

В 2008 г. было вновь показано, что в стандартных для НСК условиях культивирования около 8% ММСК формируют структуры, похожие на нейросферы, экспрессируют нейрональные маркеры нестин и musashi-1 и дифференцируются в нейроны, астроциты и олигодендроциты. При совместном культивировании их с первичными астроцитами они дифференцируются в нейроны, обладающие четко выраженными аксоном и дендритами. Было показано формирование дифференцированными клетками синапсов и образование в ответ на стимуляцию тетродотоксином потенциала действия на мембране. Дифференцировка оказалась частично обратимой: при повторном помещении в стандартные для ММСК условия культивирования, около 5% клеток возвращались в исходное состояние и переставали экспрессировать нейрональные маркеры [84].

Нельзя не упомянуть также о возможности дифференцировки ММСК в олигодендроциты — клетки, образующие миелиновые оболочки аксонов нейронов, без которых невозможна нормальная передача нервного импульса. ММСК крысы в соответствующих условиях культивирования способны экспрессировать маркеры олигодендроцитов: рецептор LNGF, Krox-20, CD104 и белок S100-β. Более того, при трансплантации такие клетки образуют миелиновые оболочки вокруг регене-

рирующих аксонов, за три недели приводя к существенному в сравнении с контролем восстановлению функций поврежденного нерва [85]. Относительно применения подобной методики при экспериментальной ТГМ работ на данный момент выполнено не было.

Заключение

Анализируя результаты исследований применения клеточной терапии при травме головного мозга, можно сделать несколько выводов. Наилучшие результаты получают при трансплантации фетальных тканей и НСК. Это легко объяснимо, так как фетальный материал, в большом количестве содержащий недифференцированные нейрональные клетки-предшественницы, и сами по себе НСК являются наиболее адекватной заменой погибших в результате травмы собственных клеток реципиента. Теоретически следует ожидать, что в условиях иммунологической изолированности тканей ЦНС аллогенные прогениторные клетки могут успешно формировать функциональные связи с нейронами реципиента и участвовать в генерации и проведении нервных импульсов, а также проявлять нейропротекторные и трофические эффекты. Но относительно применения фетальных тканей, как уже было сказано, существует ряд этических ограничений, а относительно НСК возникает проблема доступности донорского материала, а также его количества. Большая часть трансплантированных нейронов погибает путем апоптоза [75], — видимо, это связано с патологическими процессами, спровоцированными травмой и вызывающими гибель собственных клеток реципиента, протекающей в зоне повреждения воспалительной реакцией, присутствием продуктов распада ткани и нарушением в ней ионного обмена между клетками и межклеточной средой.

Отдельный интерес представляют совместные трансплантации нейральных стволовых клеток и ММСК костного мозга — этот вариант трансплантации, учитывая все преимущества использования НСК и фетальных тканей, обеспечивает их наилучшую сохранность в организме реципиента. К сожалению, данный метод также имеет ряд недостатков, связанных с этическими препятствиями применения НСК и сложностью их получения в достаточных для трансплантации количествах.

Альтернативой трансплантациям НСК и фетальных тканей являются трансплантации ММСК костного мозга — клеток, обладающих уникальными свойствами продукции широкого спектра нейротрофических факторов и иммуномодуляции. Кроме того, ММСК возможно трансплантировать не только непосредственно в ткань головного мозга, но и внутривенно, что исключает необходимость нанесения пострадавшему дополнительной травмы. Костный мозг представляет собой легко доступный источник аллогенного донорского материала, использование которого не нарушает этических норм.

В то же время, относительно воздействия ММСК на поврежденную нервную ткань остается больше вопросов, нежели ответов. Каков основной механизм эффектов, оказываемых ММСК в случае травмы головного мозга? Каким образом осуществляется их миграция в зону повреждения? Дифференцируются ли они в функционирующие нейроны и глию? Насколько стабильны оказываемые ими эффекты? Как влияет трансплантация ММСК на отдаленные последствия ТГМ? Все эти проблемы до сих пор не решены, и большинство работ в этой области, помимо того, что выполняются весьма ограниченным числом исследователей, зачастую не содержат контрольных опытов по трансплантации других

типов клеток, не родственных ММСК по происхождению. Тем не менее, есть все основания полагать, что в будущем клеточная терапия может оказаться если не

основным, то, по крайней мере, и не второстепенным по отношению к фармакотерапии методом лечения последствий травматических повреждений ЦНС.

ЛИТЕРАТУРА:

- Lu D., Mahmood A., Chopp M. Biologic transplantation and neurotrophin-induced neuroplasticity after traumatic brain injury. *J. Head Trauma Rehabil.* 2003; 18: 357–76.
- Dobkin B.H. Neuroplasticity: key to recovery after central nervous system injury. *West J. Med.* 1993; 159: 56–60.
- Reier P.J., Stokes B.T., Thompson F.J., Anderson D.K. Fetal cell grafts into resection and contusion/compression injuries of the rat and cat spinal cord. *Exp. Neurol.* 1992; 115: 177–88.
- Kermer P., Klucker N., Bähr M. Neuronal death after brain injury. Models, mechanisms, and therapeutic strategies in vivo. *Cell Tissue Res.* 1999; 298: 383–95.
- Duan X., Kang E., Liu C.Y. et al. Development of neural stem cell in the adult brain. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2008; 18(1): 108–15.
- Kempermann G., Praag H.V., Gage F.H. Activity-dependent regulation of neuronal plasticity and self repair. *Progr. Brain Res.* 2000; 127: 35–48.
- Hebb D.O. *The Organization of behavior: A Neuropsychological Theory*. 2nd ed. Wiley (NY): Lawrence Erlbaum Associates; 2002.
- Stein D.G., Hoffman S.W. Concepts of CNS Plasticity in the Context of Brain Damage and Repair. *J. Head Trauma Rehabil.* 2003; 18: 317–41.
- Kochhar A., Zivin J.A., Lyden P.D., Mazzarella V. Glutamate antagonist therapy reduces neurologic deficits produced by focal central nervous system ischemia. *Arch. Neurol.* 1988; 45: 148–53.
- Wahlgren N.G., MacMahon D., DeKeyser J. et al. Intravenous Nimodipine West European Stroke Trial (INWEST) of nimodipine in the treatment of acute stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 1994; 4: 204–10.
- Lubitz D.K. von, Lin R.C., Melman N. et al. Chronic administration of selective adenosine A1 receptor agonist or antagonist in cerebral ischemia. *Eur. J. Pharmacol.* 1994; 256: 161–7.
- Haley E.C., Kassell N.F., Alves W.M. et al. Phase II trial of tirilizad in aneurismal subarachnoid hemorrhage. A report of the Cooperative Aneurysm Study. *J. Neurosurg.* 1995; 82: 786–90.
- Alter M. Ganglioside GM1 in acute ischemic stroke. *Stroke* 1995; 25: 1141–8.
- Lenzi G.L., Grigoletto F., Gent M. et al. Early treatment of stroke with monosialoganglioside GM-1. Efficacy and safety results of the Early Stroke Trial. *Stroke* 1994; 25: 1552–8.
- Postmantur R., Kampf A., Siman R. et al. A calpain inhibitor attenuates cortical cytoskeletal protein loss after experimental traumatic brain injury in the rat. *Neuroscience* 1997; 77: 875–8.
- Bogousslavsky J. Neuroprotection as initial therapy in acute stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 1998; 8(1): 59–72.
- Reier P.J., Anderson D.K., Thompson F.J., Stokes B.T. Neural tissue transplantation and CNS trauma: anatomical and functional repair of the injured spinal cord. *J. Neurotrauma* 1992; 9 Suppl 1: S223–48.
- Li Y., Chen J., Chen X.G. Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat: neurotrophins and functional recovery. *Neurology* 2002; 59: 514–23.
- Chen X., Katakowski M., Ki Y. Human bone marrow stromal cell cultures conditioned by traumatic brain tissue extracts: growth factor production. *J. Neurosci. Res.* 2002; 69: 687–91.
- Sykova E., Jendelova P. *In vivo* tracking of stem cells in brain and spinal cord injury. *Prog. Brain Res.* 2007; 161: 367–83.
- Syková E., Jendelová P. Migration, fate and in vivo imaging of adult stem cells in the CNS. *Cell Death Differ.* 2007; 14(7): 1336–42.
- Vercelli A., Mereuta O.M., Garbossa D. et al. Human mesenchymal stem cell transplantation extends survival, improves motor performance and decreases neuroinflammation in mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol. Dis.* 2008; 31(3): 395–405.
- Freed C.R., Green P.E., Breeze R.E. et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *The New England Journal of Medicine* 2001; 344: 710–9.
- Shao L., Cialella J.R., Yan H.Q. Differential effects of traumatic brain injury on vesicular acetylcholine transporter and M2 muscarinic receptor mRNA and protein in rat. *J. Neurotrauma* 1999; 16: 555–66.
- Dunnett S.B., Ryan C.N., Levin P.D. et al. Functional consequences of embryonic neocortex transplanted to rats with prefrontal cortex lesions. *Behav. Neurosci.* 1987; 101: 489–503.
- Bjorklund A., Stenevi U. Regeneration of monoaminergic and cholinergic neurons in mammalian central nervous system. *Physiol. Rev.* 1979; 59: 62–100.
- Varon S., Hagg T., Manthorpe M. Nerve growth factor in CNS repair and regeneration. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1991; 296: 267–76.
- Nieto-Sampedro M., Whitmore S.R., Needels D.I. et al. The survival of brain transplants is enhanced by extracts from injured brain. *PNAS J.* 1984; 81: 6252–4.
- Nieto-Sampedro M., Lewis E.R., Cotman C.W. Brain injury causes a time-dependent increase in neurotrophic activity at the lesion site. *Science* 1982; 217: 860–1.
- Wennersten A., Mejer X., Holmin S. et al. Proliferation, migration, and differentiation of human neural stem/progenitor cells after transplantation into a rat model of traumatic brain injury. *J. Neurosurg.* 2004; 100: 88–96.
- Poltavtseva R.A., Marey M.V., Aleksandrova M.A. et al. Evaluation of progenitor cell cultures from human embryos for neurotransplantation. *Dev. Brain Res.* 2002; 132: 149–54.
- Семченко В.В., Еринеев С.И., Степанова С.С., и др. Трансплантация незрелой нервной ткани в экспериментальной и клинической неврологии. Омск: ГУИПП Омский дом печати; 2000.
- Гайдар Б.В., Брюховецкий А.С., Шумаков В.И. Результаты и перспективы применения трансплантации клеток нервной ткани человека при боевой травме мозга. *Бюл. эксп. биол. мед.* 1998; 126 Прилож. 1: 133–4.
- Парлюк О.В., Селедцов В.И., Рабинович С.С. и др. Результаты клеточной терапии, примененной в системе интенсивного лечения травматических ком. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2008; Ш(3): 51–6.
- Riess P., Zhang C., Saatman K.E. et al. Transplanted neural stem cells survive, differentiate, and improve neurological motor function after experimental traumatic brain injury. *Neurosurgery* 2002; 51: 1043–51.
- Smith D.H., Soares H.D., Pierce J.S. et al. A model of parasagittal controlled cortical impact in the mouse: Cognitive and histopathologic effects. *J. Neurotrauma* 1995; 12: 169–78.
- Raghupathi R. Cell death mechanisms following traumatic brain injury. *Brain Pathology* 2004; 14(2): 215–22.
- Covolan L., Ribeiro L.T., Longo B.M., Mello L.E. Cell damage and neurogenesis in the dentate granule cell layer of adult rats after pilocarpine- or kainate-induced status epilepticus. *Hippocampus* 2000; 10: 169–80.
- Eriksson P.S., Perfilova E., Bjork-Eriksson T. et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat. Med.* 1998; 4: 1313–7.
- Roy N.S., Wang S., Jiang L. et al. In vitro neurogenesis by progenitor cells isolated from the adult human hippocampus. *Nat. Med.* 2000; 6: 271–7.
- Kukelov V.G., Laywell E.D., Suslov O. et al. Multipotent stem/progenitor cells with similar properties arise from two neurogenic regions of adult human brain. *Exp. Neurol.* 1999; 156: 333–44.
- Ryder E.F., Snyder E.Y., Cepko C.L. Establishment and characterization of multipotent neural cell lines using retrovirus vector-mediated oncogene transfer. *J. Neurobiol.* 1990; 21: 356–75.
- Snyder E.Y., Deitcher D.L., Walsh C. et al. Multipotent neural cell lines can engraft and participate in development of mouse cerebellum. *Cell* 1992; 6: 33–51.
- Snyder E.Y. Immortalized neural stem cells: Insights into development — Prospects for gene therapy and repair. *Proc. Assoc. Am. Physicians.* 1995; 107: 195–204.
- Philips M.F., Mattiasson G., Wieloch T. et al. Neuroprotective and behavioral efficacy of nerve growth factor-transfected hippocampal progenitor cell transplants after experimental traumatic brain injury. *J. Neurosurg.* 2001; 94: 765–74.
- Andsberg G., Kokaia Z., Björklund A. et al. Amelioration of ischaemia-induced neuronal death in the rat striatum by NGF-secreting neural stem cells. *Eur. J. Neurosci.* 1998; 10: 2026–36.
- McDermott K.L., Raghupathi R., Fernandez S. Delayed administration of basic fibroblast growth factor (bFGF) attenuates cognitive dysfunction following parasagittal fluid percussion brain injury in the rat. *J. Neurotrauma* 1997; 14: 191–200.
- Saatman K.E., Conteras P.C., Smith D.H. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) improves both neurological motor and cognitive outcome following experimental brain injury. *Exp. Neurol.* 1997; 147: 418–27.
- Zhuravleva Z.N. The hippocampus and neurotransplantation. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2005; 35(4): 343–54.
- Trojanowski J.Q., Mantione J.R., Lee J.H. Neurons derived from a human teratocarcinoma cell line establish molecular and structural polarity following transplantation into the rodent brain. *Exp. Neurol.* 1993; 122: 283–94.
- Kleppner S.R., Robinson K.A., Trojanowski J.Q., Lee V.M. Transplanted human neurons derived from teratocarcinoma cell line (NTera-2) mature, integrate, and survive for over 1 year in the nude mouse brain. *J. Comp. Neurol.* 1995; 357: 618–32.
- Hartley R.S., Trojanowski J.Q., Lee V.M. Differential effects of spinal cord gray and white matter on process outgrowth from grafted human NTERA2 neurons (NT2N, hNT). *J. Comp. Neurol.* 1999; 415: 404–18.
- Miyazono M., Nowell P.C., Finan J.L. et al. Long-term integration and neuronal differentiation of human embryonal carcinoma cells (NTera-2) transplanted into caudoputamen of nude mice. *J. Comp. Neurol.* 1996; 376: 1–11.

54. Kondziolka D., Wechsler L., Goldstein S. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 2000; 55: 565–9.
55. Nelson P.T., Kondziolka D., Wechsler L. Clonal human (hNT) neuron grafts for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation. *Am. J. Pathol.* 2002; 160: 1201–6.
56. Zhang C., Saatman K.E., Royo N.C. et al. Delayed transplantation of human neurons following brain injury in rats: a long-term graft survival and behavior study. *Journal of Neurotrauma* 2005; 22: 1456–74.
57. Trojanowski J.Q., Kleppner S.R., Hartley R.S. Transfectable and transplantable postmitotic human neurons: a potential “platform” for gene therapy of nervous system diseases. *Exp. Neurol.* 1997; 144: 92–7.
58. Bakshi A., Keck C.A., Koshkin V.S. et al. Caspase-mediated cell death predominates following engraftment of neural progenitor cells into traumatically injured rat brain. *Brain Res.* 2005; 1065(1–2): 8–19.
59. Kaddis F.G., Clarkson E.D., Bell K.P. et al. Co-grafts of muscle cells and mesencephalic tissue into hemiparkinsonian rats: behavioral and histochemical results. *Brain Res. Bull.* 2000; 51: 203–11.
60. Lu D., Li Y., Mahmood A., Wang L. et al. Neural and marrow-derived stromal cell sphere transplantation in a rat model of traumatic brain injury. *J. Neurosurg.* 2002; 97: 935–40.
61. Bi L.X., Simmons D.J., Mainous E. Expression of BMP-2 by rat bone marrow stromal cells in culture. *Calcif. Tissue Int.* 1999; 64: 63–8.
62. Laurenzi M.A., Beccari T., Stenke L. et al. Expression of mRNA encoding neurotrophins and neurotrophin receptors in human granulocytes and bone marrow cells – enhanced neurotrophin-4 expression induced by LTβ4. *J. Leukoc. Biol.* 1998; 64: 228–34.
63. Yurek D.M., Seroogy K.B. Differential expression of neurotrophin and neurotrophin receptor mRNAs in and adjacent to fetal midbrain grafts implanted into the dopamine-denervated striatum. *J. Comp. Neurol.* 2000; 423: 462–73.
64. Azizi S.A., Stokes D., Augelli B.J. et al. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats – similarities to astrocyte grafts. *PNAS* 1998; 95: 3908–13.
65. Andersson C., Tytell M., Brunso-Bechtold J. Transplantation of cultured type 1 astrocyte cell suspensions into young, adult and aged rat cortex: cell migration and survival. *Int. J. Dev. Neurosci.* 1993; 5: 555–68.
66. Chopp M., Li Y. Treatment of neural injury with marrow stromal cells. *Lancet Neurol.* 2002; 1: 92–100.
67. Mahmood A., Lu D., Chopp M. Intravenous administration of marrow stromal cells (MSCs) increases the expression of growth factors in rat brain after traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma* 2004; 21: 33–9.
68. Mahmood A., Lu D., Chopp M. Marrow stromal cell transplantation after traumatic brain injury promotes cellular proliferation within the brain. *Neurosurg.* 2004; 55: 1185–93.
69. Mahmood A., Lu D., Qu C. et al. Human marrow stromal cell treatment provides long-lasting benefit after traumatic brain injury in rats. *Neurosurg.* 2005; 57: 1026–31.
70. Lu D., Mahmood A., Wang L. et al. Adult bone marrow stromal cells administered intravenously to rats after traumatic brain injury migrate into brain and improve neurological outcome. *Regeneration and Transplantation* 2001; 12: 559–63.
71. Lu D., Li Y., Wang L. et al. Intraarterial administration of marrow stromal cells in a rat model of traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma* 2001; 8: 813–21.
72. Mahmood A., Lu D., Wang L., Chopp M. Intracerebral transplantation of marrow stromal cells cultured with neurotrophic factors promotes functional recovery in adult rats subjected to traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma* 2002; 19: 1609–18.
73. Bhang S.H., Lee Y.E., Cho S.W. et al. Basic fibroblast growth factor promotes marrow stromal cell transplantation-mediated neural regeneration in traumatic brain injury. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2007; 359: 40–5.
74. Munoz-Elias G., Marcus A.J., Coyne T.M. et al. Adult bone marrow stromal cells in the embryonic brain: engraftment, migration, differentiation, and long-term survival. *J. Neurosci.* 2004; 24: 4585–95.
75. Alvarez-Dolado M., Pardal R., Garcia-Verdugo J.M. et al. Fusion of bone marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 2003; 425: 968–73.
76. Weimann J.M., Charlton C.A., Brazelton T.R. et al. Contribution of transplanted bone marrow cells to Purkinje neurons in human adult brains. *PNAS USA* 2003; 100: 2088–93.
77. Bertani N., Malatesta P., Volpi G. et al. Neurogenic potential of human mesenchymal stem cells revisited: analysis by immunostaining, time-lapse video and microarray. *J. Cell Sci.* 2005; 118: 3925–36.
78. Deng J., Petersen B.E., Steindler D.A. et al. Mesenchymal stem cells spontaneously express neural proteins in culture and are neurogenic after transplantation. *Stem Cells* 2006; 24: 1054–64.
79. Tondreau T., Dejenefte M., Meuleman N. et al. Gene expression pattern of functional neuronal cells derived from human bone marrow mesenchymal stromal cells. *BMC Genomics* 2008; 9: 166–77.
80. Arnold S., Klein H., Klinz F.J. et al. Human bone marrow stroma cells display certain neural characteristics and integrate in the subventricular compartment after injection into the liquor system. *Eur. J. Cell Biol.* 2006; 85(6): 551–65.
81. Choong P.F., Mok P.L., Cheong S.K. et al. Generating neuron-like cells from BM-derived mesenchymal stromal cells *in vitro*. *Cytherapy* 2007; 9(2): 170–83.
82. Tropel P., Platet N., Platel J.C. et al. Functional neuronal differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2007; 25(2): 543
83. Cho K.J., Trzaska K.A., Greco S.J. et al. Neurons derived from human mesenchymal stem cells show synaptic transmission and can be induced to produce the neurotransmitter Substance P by Interleukin-16. *Stem Cells* 2005; 23: 383–91.
84. Shin C.C., Fu L., Zhu L. et al. Derivation of neural stem cells from mesenchymal stem cells: evidence for a bipotential stem cell population. *Stem Cells Dev.* 2008; In Print.
85. Keilhoff G., Gohl A., Langsdorf K. et al. Transdifferentiation of mesenchymal stem cells into Schwann cell-like myelinating cells. *Eur. J. Cell. Biol.* 2006; 85(1): 11–24.

Поступила 17.09.2008