

допамин-нейронов двигательной зоны стриатума нормального мозга человека (Calbindin-/Girk2+). Допамин-нейроны трансплантата находили в каждом канале введения клеток и в виде скоплений – в местах графтинга. Общее количество таких нейронов составляло около 120–200 тысяч. Несмотря на то, что пациенты принимали иммуносупрессоры (циклоsporин А) в течение полугода после трансплантации, были выявлены лишь признаки небольшого скопления (появления так называемых «рубцов») CD45+ клеток активированной микроглии (GFAP+) и единичные макрофаги. Эти данные противоречат морфологическим данным, полученным в исследовании Freed C.R. [4], где была выявлена выраженная микроглиальная реакция и повышенная экспрессия МНС-II (генов гистосовместимости) при трансплантации фрагментов ткани.

Таким образом, в исследовании было показано, что фетальные нейроны, трансплантированные в головной мозг пациентов с болезнью Паркинсона, длительно выживают (более 3–4 лет). Клетки продуцируют терапевтический уровень допамина и реиннервируют путамен хозяина без побочных эффектов. Авторы указывают, что после трансплантации в область путамена выживаемость допамин+ клеток составила 15–30%, а трансплантата области чёрной субстанции – 4–8%. Хороший эффект трансплантации авторы объясняют применением метода прекультивирования суспензии нейронов в среде с GDNF и введения именно суспензии клеток,

а не фрагментов ткани, как это было выполнено в двух предыдущих исследованиях. Кроме того, в этом исследовании впервые было проанализировано состояние трансплантата после графтинга в область чёрной субстанции. Общее число выживших допамин+ нейронов было значительно выше, чем их примерное количество в твёрдых трансплантатах, указанное авторами [4, 5]. Авторы исследования указывают, что применение подобного метода заместительной клеточной трансплантации не имеет побочных эффектов и может быть терапевтически выгодным даже у пациентов на далеко зашедших стадиях заболевания с анамнезом более 10 лет. Например, у одного пациента было достигнуто долговременное восстановление синтеза допамина слева на 65% и справа – на 88% от нормального уровня.

После испытаний метода нейротрансплантации для лечения болезни Паркинсона Olanow [5] и Freed [4], его клиническая судьба была поставлена под сомнение. Однако, тщательные морфологические исследования постмортальных трансплантатов в головном мозге реципиентов показывают, что метод «работает» и может быть клинически выгодным для большинства пациентов. Такие исследования указывают клиницистам, какой именно протокол нейротрансплантации оптимален и может служить методом выбора. Дискуссия о клинической судьбе и перспективах метода представлена в недавнем обзоре [2].

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Lindvall O., Brundin P., Widner H. et al. Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. *Science* 1990; 247: 574–7.
2. Winkler C., Kirik D., Bjorklund A. Cell transplantation in Parkinson's disease: how can we make it work? *Trends Neurosci.* 2005; 28: 86–92.
3. Dunnett S.B., Bjorklund A., Lindvall O. Cell therapy in Parkinson's disease – stop or go? *Nat Rev. Neurosci.* 2001; 2: 365–9.
4. Freed C.R., Greene P.E., Breeze R.E. et al. Transplantation of embryonic

dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344: 710–9.

5. Olanow C.W., Goetz C.G., Kordower J.H. et al. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 2003; 54: 403–14.

6. Kordower J.H., Freeman T.B., Snow B.J. et al. Neuropathological evidence of graft survival and striatal reinnervation after the transplantation of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 1118–24.

Подготовил А.В. Берсенев  
по материалам *Brain* 2005; 128: 1498–510;  
doi:10.1093/brain/awh510

## Трансплантация клеток костного мозга пациентам с травмой спинного мозга – результаты пилотного клинического исследования в Южной Корее

Травма позвоночника, осложненная повреждением спинного мозга в виде его компрессии, размозжения, частичного или полного разрыва, является одной из актуальных медико-социальных проблем современной медицины, поскольку ведёт к глубокой инвалидизации пострадавших. Последствия травмы спинного мозга (ТСМ) чаще всего проявляются вялым или спастическим параличом, в лучшем случае – парезом конечностей и дисфункцией тазовых органов. В настоящее время не существует действительно эффективных методов лечения травматического повреждения спинного мозга, особенно когда после травмы прошли месяцы и годы [1].

В последние годы были испытаны различные методы клеточной нейротрансплантации для коррекции ТСМ в клинике [2]. Для этого применяли трансплантацию поддерживающих клеток «обонятельного эпителия» [3], активированных

макрофагов [4], фетальных нейронов [5] и клеток костного мозга [6].

В прошлом году на ежегодной конференции American Society for Neurotransplantation and Repair был представлен первый доклад по результатам аутологичной трансплантации клеток костного мозга для лечения ТСМ в Motol Hospital (Prague) [6]. От 10 до 147 млн CD34+ клеток костного мозга вводили в позвоночные артерии 9-ти пациентам с различными уровнями повреждения. У 6-ти из 9-ти пациентов было отмечено улучшение через 3–6 месяцев после трансплантации клеток [2, 6].

В недавнем номере журнала *Tissue Engineering* опубликованы результаты клинического исследования по эффективности трансплантации клеток костного мозга в область повреждения спинного мозга в сочетании с терапией гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим

фактором (ГМ–КСФ). Исследование проводилось в Inha University College of Medicine (South Korea).

В исследовании было включено 6 пациентов с полным функциональным перерывом, «свежей» (до 14 суток) ТСМ в шейном отделе, с неврологическим классом А по шкалам ASIA (American Spinal Injury Association – Frankel) и AIS (American Impairment Scale). Мононуклеарные клетки выделяли из аспирата костного мозга (объемом 100–150 мл), полученного перед операцией трансплантации. Клетки вводили через 7 дней после травмы непосредственно в спинной мозг в количестве около 2–х миллиардов по периметру области повреждения в несколько точек. После операции подожно вводили рекомбинантный ГМ–КСФ в 5 циклов в течение 5–ти месяцев. Время клинического наблюдения составляло 6–18 месяцев.

Сразу после операции все пациенты отметили улучшение чувствительности. Восстановление чувствительности в тазовых сегментах отмечали через 1–7 месяцев после трансплантации. Моторика значительно улучшилась у 5–ти пациентов из 6–ти. У 4–х пациентов наблюдали значительное улучшение неврологического статуса по шкале AIS (от класса А до С), у 2–х пациентов – без значительной динамики (от А до В). Осложнений трансплантации, ухудшения неврологического статуса и самочувствия пациентов отмечено не было. Наблюдали типичные побочные эффекты терапии ГМ–КСФ (лихорадка, миалгии, лейкоцитоз). Магнитно–резонансная томография через 4–6 месяцев после травмы показала слабое увеличение объема в области трансплантации клеток.

Таким образом, предложенный протокол трансплантации клеток совместно с терапией ГМ–КСФ безопасен и предварительно клинически эффективен у пациентов с острой ТСМ с функциональным перерывом. Для изучения клинической эффективности метода необходимы дальнейшие доказательные исследования с группами контроля.

Механизм действия трансплантации клеток костного мозга и введения ГМ–КСФ неясен. Предполагаемые механизмы действия клеточно–терапевтического подхода, основанные на экспериментальных данных, следующие:

– способность к прямой дифференцировке некоторых популяций костного мозга в нейроны и/или миелин–продуцирующие клетки [7, 8];

– введенные клетки выделяют факторы роста и белки экстрацеллюлярного матрикса, способствующие регенерации, ремиелинизации, ангиогенезу или стимуляции собственных прогениторных клеток в месте повреждения [7, 9];

– ГМ–КСФ способен предотвращать апоптоз не только гемопоэтических, но и нейрональных клеток в области ТСМ [11], вызывать мобилизацию прогениторных клеток из костного мозга в периферическую кровь; активировать макрофаги в зоне повреждения спинного мозга, элиминировать «миелиновый дебрис» и поддерживать аксональную регенерацию [10, 11]. В пользу последних двух механизмов указывает и тот факт, что один пациент получал только курс ГМ–КСФ, без трансплантации клеток, продемонстрировав, однако, схожее улучшение с другими пятью пациентами.

Авторы сознательно выбрали мононуклеарную фракцию клеток костного мозга в качестве трансплантационного материала, поскольку сразу несколько её популяций (гемопоэтические и стромальные клетки, макрофаги) могут оказаться полезными для регенерации в области повреждения. С другой стороны, такой подход не даёт возможности идентифицировать действующую популяцию клеток и затрудняет понимание механизмов действия метода. Интересно также, что авторы вводили очень большое количество клеток (2 миллиарда в 1,8 мл раствора), представляющее собой даже не взвесь, а «пасту».

Нужно отметить, что прогноз для пациентов, отобранных для исследования (AIS класс А), при обычных методах лечения неблагоприятный. Около 90% из них обычно не восстанавливаются даже до класса В (по AIS) в течение первого года после травмы. Результаты, полученные корейской группой ученых позволяют надеяться, что предложенный метод лечения подтвердит свою эффективность в будущих исследованиях и подарит надежду на новое качество жизни больным с травмой спинного мозга.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Станков Д.С., Катунян П.И., Крашенинников М.Е., Онищенко Н.А. Нейротрансплантация в лечении травмы спинного мозга. Вестник трансплантологии и искусственных органов 2003; 1: 44–52.
2. Reie P.J. Cellular transplantation strategies for spinal cord injury and translational neurobiology. NeuroRx 2004; 1: 424–51.
3. Huang H., Chen L., Wang H. et al. Influence of patients' age on functional recovery after transplantation of olfactory ensheathing cells into injured spinal cord injury. Chin. Med. J. (Engl) 2003; 116: 1488–91.
4. Lammertse D. Clinical trials in spinal cord injury: the Proneuron activated macrophage trial. Proceedings of the 49th Annual Conference of the American Paraplegia Society, 2003.
5. Seiger A., Holtz A., Akesson E. et al. Fetal spinal cord grafting in man. J. Neurol. Rehab. 1998; 12: 198–9.
6. Sykova E., Jendelova P., Glogarova K. et al. Bone marrow stromal cells –

a promising tool for therapy of brain and spinal cord injury. Exp. Neurol. 2004; 187: 220.

7. Sasaki M., Honmou O., Akiyama Y. et al. Transplantation of an acutely isolated bone marrow fraction repairs demyelinated adult rat spinal cord axons. Glia 2001; 35: 26–34.

8. Chopp M., Zhang X.H., Li Y. et al. Spinal cord injury in rat: Treatment with bone marrow stromal cell transplantation. Neuroreport 2000; 11: 3001–5.

9. Wu S., Suzuki Y., Ejiri Y. et al. Bone marrow stromal cells enhance differentiation of cocultured neurosphere cells and promote regeneration of injured spinal cord. J Neurosci Res 2003; 72: 343–51.

10. Kim J.K., Choi B.H., Park H.C. et al. Effects of GM–CSF on the neural progenitor cells. Neuroreport 2004; 15: 2161–5.

11. Ha Y., Kim Y.S., Cho J.M. et al. Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM–CSF) prevents apoptosis and improves functional outcome in experimental spinal cord contusion injury. J.Neurosurg. 2005; 2: 55–61.

Подготовил А.В. Берсенев  
по материалам Tissue Eng. 2005; 11: 913–22.