

HUMAN STUDY

Трансплантация клеток пуповинной крови в область повреждения спинного мозга – анализ первого клинического наблюдения

В последние годы интенсивно изучаются возможности терапевтического применения различных клеточных популяций, выделенных из пуповинной крови (ПК), для лечения целого ряда негематологических заболеваний [1]. После преклинических испытаний методов клеточной трансплантации ПК на животных моделях стали появляться первые сообщения о применении метода у человека, как начале первой фазы клинических испытаний.

Год назад корейские исследователи из Seoul National University (Seoul, Korea) впервые анонсировали результаты удачного применения клеток ПК для лечения женщины, парализованной вследствие травмы спинного мозга (ТСМ) [2]. Недавно результаты этого первого наблюдения были представлены научно-клиническому сообществу.

Подоплёкой начала клинических испытаний такого метода клеточной трансплантации для лечения ТСМ послужили данные о возможности дифференцировки различных клеточных популяций ПК в клетки нейронального фенотипа *in vitro* [1, 3] и *in vivo* после их трансплантации в область повреждения спинного мозга [4, 5]. Исследователи выделяли из ПК так называемые мезенхимальные стволовые клетки (МСК), используя их высокую адгезивную способность к пластике. Фенотип клеток перед трансплантацией: CD24⁻/CD62L⁻/CD62P⁻/CD20⁻/CD29⁺/CD44⁺/CD14⁺/CD49b⁺/CD135⁺. Тем самым авторы исключают среди этих клеток наличие зрелых Т-, В- и NK-клеток, эритроцитов и тромбоцитов. Однако, в статье не приводятся данные по экспрессии таких важных маркёров, как CD105(SH2), CD34, CD45, HLA-DR, CD133, CD90 (при упоминании использования этих антител в работе). Способность этой популяции клеток к нейрональной дифференцировке была показана в культуре (по экспрессии маркёров NSE и GFAP).

Пациентка – 37-летняя женщина с нижней параплегией (по шкале ASIA (American Spinal Injury Association)) на уровне Th10 позвонка, возникшей 20 лет назад после острой ТСМ, передвигающаяся на инвалидном кресле. Клетки ПК после 2-недельного культивирования пересаживали непосредственно в область повреждения во время открытого нейрохирургического вмешательства. После ламинэктомии на уровне Th10–12 один миллион МСК вводили в субарахноидальное пространство дистальнее места повреждения и ещё один миллион – интра- и субдурально в область повреждения.

Уже через 2 недели после трансплантации пациентка была способна двигать ногами (приподнимала) и отвечала на раздражение кожи и мышц. Впоследствии женщина смогла гнуть ноги в суставах, вставать и ходить [2]. Авторы применили несколько электрофизиологических (изучение вызванных моторных и сенсорных потенциалов, нервной проводимости) и клинических методов и достоверно показали восстановление нервной проводимости, моторики и чувствительности ниже уровня повреждения.

Таким образом, это первое описанное в научной литературе наблюдение показывает высокую эффективность аллогенной трансплантации клеток ПК в область повреждения спинного мозга. Такая трансплантация привела к значительному восстановлению моторной функции и чувствительности ниже места повреждения даже через 20 лет после травмы.

Однако остаются неясными и нерешёнными многие вопросы. Например, какие именно клетки ПК были пересажены? Из приведённых данных по экспрессии поверхностных маркёров нельзя чётко определить принадлежность этих клеток к той или иной описанной клеточной популяции ПК (гемопозитические, мезенхимальные, мультипотентные стволовые, лейкоциты и т.д.). Само наличие МСК в ПК остаётся дискуссионным [6–8], и нельзя определить «популяционную принадлежность» клеток только по адгезивной способности и без подтверждения их фенотипа перед трансплантацией. Так, в данном исследовании большую часть клеток трансплантата могли составить моноциты и их предшественники (CD14⁺/CD49b⁺/CD135⁺), тем более, что совсем недавно были опубликованы клинические данные по возможной эффективности макрофагов для коррекции неврологического дефицита после ТСМ [9].

Неясен и не изучен механизм действия введённых клеток. Так, в экспериментальных работах было показано, что факторы роста (BDNF (Brain-derived neurotrophic factor)), наряду с дифференцировкой клеток ПК, также способствуют восстановлению функции после ТСМ [4, 10]. Аналогичный механизм действия подтверждает ряд работ по эффективности трансплантации иммунных клеток (макрофагов, дендритных клеток) при ТСМ [9–11]. Большинство экспериментальных исследований были выполнены на моделях острой ТСМ. Кроме того, авторы не могут пока исключить и плацебо-эффект, указывая, что теоретически даже сам факт ламинэктомии и «ревизии» области повреждения мог привести к некоторому функциональному улучшению. Исследователи говорят, что по результатам одного наблюдения и без создания контрольной группы нельзя судить об эффективности метода в целом.

Очень важный аспект – возможность аллогенной трансплантации клеток без иммуносупрессии. Этой пациентке не проводили никакой иммуносупрессии, при этом не наблюдали реакции отторжения. Это говорит о низкой иммуногенности клеток трансплантата, связанной, по-видимому, с их «незрелостью» и иммунонекомпетентностью. Интересно, что в абстракте к статье говорится, что клетки ПК были HLA-совместимы, однако в самом тексте не приводятся данные по типированию и степени совместимости образца. В заявлениях прессе авторы работы указывают, что при аллогенной трансплантации клеток ПК, выделенных по их методу, риск иммунного ответа незначителен и HLA-типирование необязательно. С другой стороны, такое небольшое количество аллогенных клеток (2 миллиона) не могло вызвать клинически значимую реакцию отторжения при нормально

функционирующей иммунной системе, тем более, что все вышеописанные клетки были удалены из трансплантата.

Корейские исследователи начали клиническую программу по трансплантации стволовых клеток ПК для лечения TCM

ЛИТЕРАТУРА:

1. Берсенев А.В. Перспективы использования клеток пуповинной крови для терапии негематологических заболеваний. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. [http://celltranspl.ru/journal/publications/?MESSAGES\[1\]=SHOW_PUBLICATION&PUBLICATION_ID=812](http://celltranspl.ru/journal/publications/?MESSAGES[1]=SHOW_PUBLICATION&PUBLICATION_ID=812)
2. Paralyzed woman walks again after stem cell therapy. World – AFP, November 28, 2004. http://www.cordblood.com/cord_blood_news/stem_cell_news/a_paralyzed.asp
3. Jeong J.A., Gang E.J., Hong S.H. et al. Rapid neural differentiation of human cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Neuroreport*. 2004; 15: 1731–4.
4. Kuh S.U., Cho Y.E., Yoon D.H. et al. Functional recovery after human umbilical cord blood cells transplantation with brain-derived neurotrophic factor into the spinal cord injured rat. *Acta Neurochir. (Wien)* 2005; 147: 985–92.
5. Zhao Z.M., Li H.J., Liu H.Y. et al. Intraspinal transplantation of CD34⁺ human umbilical cord blood cells after spinal cord hemisection injury improves functional

recovery in adult rats. *Cell Transplant*. 2004; 13: 113–22.

6. Mareschi K., Biasin E., Piacibell W. et al. Isolation of human mesenchymal stem cells: bone marrow versus umbilical cord blood. *Haematologica* 2001; 86:1099–100.
7. Wexler S.A., Donaldson C., Denning-Kendall P. et al. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br. J. Haematol.* 2003; 121: 368–74.
8. Lee O.K., Kuo T.K., Chen W.M. et al. Isolation of multi-potent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004; 103: 1669–75.
9. Knoller N., Auerbach G., Fulga V. et al. Clinical experience using incubated autologous macrophages as a treatment for complete spinal cord injury: phase I study results. *J. Neurosurg. Spine* 2005; 3: 173–11.
10. Hashimoto M., Nitta A., Fukumitsu H. et al. Inflammation-induced GDNF improves locomotor function after spinal cord injury. *Neuroreport*. 2005; 16: 99–102.
11. Schwartz M., Yoles E. Macrophages and dendritic cells treatment of spinal cord injury: from the bench to the clinic. *Acta Neurochir. Suppl.* 2005; 93: 147–50.

Подготовил А.В. Берсенев
По материалам *Cytotherapy* 2005; 7: 368–73

Судороги и кома как осложнения, связанные с токсичностью криопротектора (ДМСО) при инфузии гемопоэтических клеток в клинике трансплантации костного мозга

Диметилсульфоксид (ДМСО) до сих пор остаётся общепринятым и самым распространённым криопротектором во всём мире, в том числе и для криоконсервирования гемопоэтических клеток в клинике трансплантации костного мозга (ТКМ). В связи с высокой токсичностью этого вещества в клинике ТКМ был описан ряд осложнений, в том числе и такие тяжёлые, как энцефалопатия [1,2] и дыхательная недостаточность [3].

В журнале *Leukemia & Lymphoma*, бельгийскими авторами описано новое наблюдение возникновения судорог и комы, связанных с токсичностью ДМСО после аутотрансплантации гемопоэтических клеток.

Пациенту 49 лет выполняли трансплантацию мобилизованных гемопоэтических аутоклеток по поводу рецидива лимфомы. При инфузии «неотмытых» клеток, содержащих 10% ДМСО, наблюдали возникновение тонико-клонических судорог. Пациента перевели в палату интенсивной терапии, где судороги были купированы. Инфузию оставшегося трансплантата проводили после 2-кратной отмывки клеток, осложнений не наблюдали. Через 17 дней, в связи с отсутствием энgraфтинга было решено выполнить повторную трансплантацию аутоклеток, криоконсервированных 4 года назад. При выполнении повторной трансплантации клетки были дважды отмыты от криопротектора, однако у пациента вновь развились генерализованные судороги и кома. Пациент находился в коме по шкале Глазго (GSC) < 7 на искусственной вентиляции лёгких. Инструментальные

методы (электроэнцефалография, компьютерная и магнитно-резонансная томография) подтвердили наличие тяжёлой энцефалопатии. Через 35 дней пациент был переведён из реанимации в общую палату. Гематологические данные показали неполную реконституцию костного мозга с восстановлением нормального количества нейтрофилов. Через 3 месяца после трансплантации пациент умер в связи с осложнениями основного заболевания.

Авторы впервые описали картину токсической комы, связанной с токсичностью ДМСО, отличную от энцефалопатии, возникающей при терапии другими веществами и препаратами. Интересно, что авторы наблюдали развитие генерализованных судорог, возникающих немедленно во время инфузии размороженного клеточного трансплантата, без какого-либо отягощённого анамнеза. Данные инструментальных исследований отрицали наличие эпилептогенных очагов в головном мозге. Ранее уже описывались судороги после трансплантации гемопоэтических клеток [1, 2], однако это наблюдение позволило чётко связать и описать ДМСО-вызванную энцефалопатию.

Токсичность криопротектора остаётся актуальной проблемой многих центров ТКМ. Это связано, в том числе, и с тем, что до сих пор не разработаны единые критерии и требования к подготовке размороженного трансплантата гемопоэтических клеток перед инфузией. Так, недавно, ведущая организация в Европе – EBMT (The European Group for Blood and Marrow Transplantation), регулирующая деятельность центров ТКМ,