

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ИНСУЛЬТА И ПОЗВОНОЧНО-СПИННОМОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

М.А. Коноплянников, В.П. Баклашев, В.А. Кальсин,
М.А. Тихоновский, А.В. Аверьянов

В обзоре анализируется современное состояние проблемы клеточной терапии неврологических осложнений ишемического инсульта и позвоночно-спинномозговой травмы (ПСМТ). Приводятся современные данные по использованию различных типов стволовых клеток для терапии данных тяжелых нарушений, полученные как в экспериментальных исследованиях на животных моделях, так и в результате клинических исследований. Наиболее подробно рассматривается применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и нейральных стволовых/прогениторных клеток (НСК/НПК) для терапии инсульта и ПСМТ. Обсуждаются дальнейшие перспективы развития клеточной терапии указанных заболеваний.

Ключевые слова: ишемический инсульт, позвоночно-спинномозговая травма, стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки, нейральные стволовые/прогениторные клетки.

CELL THERAPY OF STROKE AND SPINAL CORD INJURY COMPLICATIONS

М.А. Konoplyannikov, V.P. Baklaushev, V.A. Kalsin,
М.А. Tikhonovsky, A.V. Averyanov

The review analyzes the current advances of cell therapy for neurological complications of ischemic stroke and spinal cord injury (SCI). We demonstrate the most recent data on the use of different types of stem cells for the treatment of these severe damages, obtained both in experimental studies using animal models and in clinical studies. We particularly discuss the use of mesenchymal stem cells (MSC) and neural stem/progenitor cells (NSC/NPC) for the treatment of stroke and SCI. We also discuss the prospects for a further development of cell therapy of these diseases.

Key words: ischemic stroke, spinal cord injury, stem cells, mesenchymal stem cells, neural stem/progenitor cells.

Список сокращений:

НСК – нейральные стволовые клетки
НПК – нейральные прогениторные клетки
ЦНС – центральная нервная система
МСК – мезенхимальные стволовые клетки
ПСМТ – позвоночно-спинномозговая травма
ЭСК – эмбриональные стволовые клетки
СГЗ – субгранулярная зона
СВЗ – субвентрикулярная зона
НИН – National Institutes of Health (Национальные Институты Здоровья, США)

Ишемический церебральный инсульт является второй по значимости причиной смерти в развитых странах мира и ведущей причиной инвалидизации взрослого населения трудоспособного возраста. Социальные затраты, связанные с расходами на лечение больных инсультом в стационарных и амбулаторных условиях, являются главной статьёй расходов здравоохранения многих стран, в том числе и в России. Инвалидизация после перенесенного инсульта занимает первое место среди всех причин стойкой утраты трудоспособности [1].

Единственным эффективным способом патогенетической терапии инсульта является реканализация окклюзированных сосудов; однако, вследствие узкого временного окна и особенностей логистики пациентов с ишемическим инсультом в России, применение данной процедуры весьма ограничено. Поскольку у подавляющего большинства пациентов сохраняется неврологический дефицит даже после успешно проведенного тромболизиса, очень актуальна разработка эффективных методов регенеративной терапии, способствующей ремоделированию и репарации нервной ткани.

Одним из таких способов терапии может стать трансплантация стволовых клеток. В экспериментах на животных с различными моделями ишемического инсульта было показано, что трансплантация стволовых клеток – как мезенхимальных, полученных из костного мозга, так и нейральных прогениторных клеток (НПК) или нейральных стволовых клеток (НСК), способствует восстановлению неврологического дефицита [2].

Позвоночно-спинномозговая травма (ПСМТ) является вторым после ишемического инсульта неврологическим заболеванием, как по частоте (в различных географических регио-

нах варьирует от 29,4 до 100 случаев на один миллион жителей), так и по тяжести инвалидизации, а также отсутствию эффективных методов терапии неврологических осложнений. В частности, в Северной Америке ежегодно регистрируется в среднем 10 тыс случаев ПСМТ, а в целом в мире – около 500 тыс случаев ПСМТ [3]. В крупных российских городах, таких как Москва, Санкт-Петербург и Нижний Новгород, частота ПСМТ составляет 0,58 – 0,6 на 10 000 населения, таким образом, в Москве ежегодно происходит около 700 случаев ПСМТ. По России в целом ежегодно количество пострадавших с ПСМТ увеличивается на 8 тысяч. С учётом того, что лишь 20 – 30% пациентов с ПСМТ способны в результате интенсивной реабилитации хотя бы частично восстановить утраченные функции, когорта пациентов с тяжелыми последствиями ПСМТ также ежегодно увеличивается.

За последние двадцать лет значительные успехи были достигнуты в понимании патофизиологии травматического повреждения спинного мозга. Кроме того, значительные результаты также были достигнуты в исследовании природы как стволовых клеток в различных системах клеточного обновления взрослого организма (среди которых особое место занимают МСК), так и эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), а также в изучении различных путей их дифференцировки в НСК и НПК. Предполагается, что эти достижения могут быть объединены для создания эффективной стратегии лечения ПСМТ. Например, трансплантация соответствующим образом коммитированных НСК теоретически может воссоздать цитоархитектонику поврежденных проводящих путей и способствовать восстановлению двигательных функций.

Стволовые и прогениторные клетки в экспериментальных моделях инсульта

В определенных областях взрослого мозга, таких как субгранулярная зона (СГЗ) зубчатой извилины и субвентрикулярная зона (СВЗ) боковых желудочков, эндогенный нейрогенез сохраняется и во взрослом возрасте [4]. Эти нейрогенные ниши включают НПК, которые дифференцируются в нейроны в физиологических условиях [5]. На животных моделях инсульта было показано, что ишемия головного мозга стимулирует эндогенный нейрогенез,

и НПК мигрируют из СГЗ и СВЗ к месту повреждения, где они пролиферируют и дифференцируются в нейроны [6]. К сожалению, как степень дифференцировки, так и степень выживания эндогенных НПК низка [7]. По этой причине, функциональный вклад эндогенного нейрогенеза в постишемическое неврологическое восстановление остается предметом дискуссий.

Благодаря хорошо изученным терапевтическим свойствам стволовых и прогениторных клеток, они были использованы на животных моделях ишемического инсульта для стимулирования неврологического восстановления. Эмбриональные стволовые клетки, хотя и обладают способностью давать начало всем клеточным линиям, имеют ограниченный терапевтический потенциал, в связи с потенциальной угрозой образования тератом и из-за этических проблем при их получении и использовании [8]. Хорошие результаты показало применение дефинитивных стволовых и прогениторных клеток, полученных из различных тканевых источников, которые были трансплантированы локально или системно животным, с моделированной фокальной церебральной ишемией [9]. Хотя прижившиеся клетки, как полагают, и не интегрировались в существующие нейронные сети, зато они способствовали неврологическому восстановлению через не прямые паракринные механизмы, которые включают в себя стимуляцию эндогенного ангиогенеза и пластичности нейронов, стабилизацию гематоэнцефалического барьера, а также модуляцию периферического и центрального иммунного ответа [10].

Клинические испытания терапии инсульта с использованием стволовых и прогениторных клеток

Несмотря на то, что вопросы, связанные с выбором оптимального типа клеток, а также наиболее адекватного времени и способа их введения, продолжают активно обсуждаться, клинические испытания уже ведутся, причем некоторые из них демонстрируют многообещающие результаты. Как и во многих других клинических исследованиях, наиболее широко используемым типом стволовых клеток для терапии инсульта являются аутологичные и аллогенные МСК, полученные из костного мозга или жировой ткани человека.

МСК для терапии инсульта

МСК характеризуются способностью к адгезии на культуральном пластике, экспрессией таких клеточных маркеров, как CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, а также способностью дифференцироваться в клетки жировой, костной, хрящевой и ряда других тканей [11]. МСК могут быть легко получены из различных тканевых источников, включая костный мозг и жировую ткань [12]. Они также могут быть легко размножены *in vitro* и рассматриваются как иммунологически инертные, что снижает риск отторжения трансплантированных клеток при аллогенной трансплантации [13]. Хотя МСК могут быть дифференцированы в клетки нервной ткани *in vitro* [14], их потенциал к нейральной дифференцировке довольно низок. Тем не менее, трансплантация МСК улучшает неврологические показатели в экспериментальных моделях инсульта, что в первую очередь связано с паракринными эффектами трансплантированных клеток [15].

Перспективные предклинические результаты привели к применению МСК для клинической терапии инсульта. В одном из самых первых рандомизированных клинических испытаний, Bang и соавт [16] внутривенно трансплантировали аутологичные МСК два раза в течение 9 недель после инсульта. За время годового периода наблюдения у пациентов, получавших МСК, выявлено достоверное увеличение индекса Бартеля (индекса, применяемого для оценки восстановления больных, перенесших мозговую инсульт в остром периоде заболевания) по сравнению с контрольными пациентами, а также возросшая оценка терапевтического эффекта по шкале инсульта Национальных Институтов Здоровья (NIHSS), хотя исходные показатели повреждения головного мозга, оцениваемые по тестам магнитно-резонансной томографии (МРТ), не отличались между группами. К сожалению, количество пациентов в этом исследовании было недостаточно большим (5 пациентам трансплантировали МСК и 25 пациентов было в контрольной группе), что, возможно, объясняет отсутствие значимого различия результатов в группах. Принимая во внимание этот статистический недостаток, а также озабоченность по поводу безопасности применяемой при культивировании МСК эмбриональной телячьей сыворотки [17], та же исследовательская группа провела

дополнительное открытое клиническое исследование на пациентах с последствиями тяжелого инсульта, с периодом наблюдения 5 лет [18]. Как и в более раннем исследовании, МСК трансплантировали внутривенно два раза в общей сложности 16 пациентам, в то время как в контрольной группе пациенты не получали клеточных инъекций. Хотя 4 пациента из группы, получающей МСК (25% от общего числа в группе), умерли во время периода наблюдения от различных осложнений тяжелого инсульта, никаких существенных побочных эффектов или сопутствующих заболеваний, связанных с трансплантацией МСК, не наблюдалось. Для сравнения: в контрольной группе во время периода наблюдения умер 21 пациент (58,3% от общего числа в группе). Важно отметить, что оценка по модифицированной шкале измерений (mRS) была значительно улучшена у больных, получающих МСК, в течение всего периода наблюдения. Это улучшение сопровождалось повышением в сыворотке крови уровня фактора SDF-1, который активируется при инсульте у грызунов и, как было показано, является одним из важнейших факторов, индуцирующих хоминг МСК [19]. Хотя Lee и соавт [18] значительно расширили период наблюдения (до 5 лет), более определенные выводы об эффективности МСК не могут быть сделаны по данным этого исследования, в котором не была использована рандомизация и слепой метод. Интересно, однако, что полезные эффекты, связанные с терапией МСК, видимо, коррелируют с вовлечением субвентрикулярной зоны (СВЗ) боковых желудочков в очаг инсульта. Так, трансплантация МСК была более эффективной, когда СВЗ не была частью повреждения развивающегося инсульта, что позволяет предположить, что не прямое действие МСК способствует активации механизмов эндогенной нейрорепарации.

По данным недавнего МРТ-исследования, СВЗ находится в непосредственной близости от очагов инсульта у большей части пациентов, перенесших инсульт. В изучаемой группе, состоящей из 108 пациентов, впервые перенесших инсульт, расстояние от ближайшего края инфаркта до СВЗ было ≤ 2 мм у половины всех пациентов, демонстрирующих видимое повреждение на изображении, полученном методом диффузионно-взвешенной МРТ [20]. Таким образом, связь между повреждением

при инсульте и СВЗ может являться важным фактором, влияющим на результат клеточной терапии [18].

В то же время, дальнейшие клинические испытания представили доказательства, что внутривенная трансплантация МСК является безопасной и целесообразной при терапии инсульта человека [21]. Тем не менее, научные выводы из этих исследований также затруднены из-за неоднородного дизайна исследований, различных сроков трансплантации клеток и значительных различий в размерах групп сравнения. Так, только два из вышеупомянутых исследований включали контрольные группы без введения клеток [21, 22]. Поэтому следует считать, что положительные эффекты, связанные с трансплантацией МСК, описанные Bhasin и соавт [21], нуждаются в дальнейшей оценке с точки зрения доказательной медицины; механизмы подобного терапевтического влияния также должны быть уточнены.

Поскольку хоминг МСК и других стволовых клеток в головном мозге ограничен при внутривенной трансплантации, группой бразильских исследователей было выполнено внутриартериальное введение ^{99m}Tc -меченных МСК у шести пациентов, перенесших инсульт, с целью добиться возможного увеличения количества клеток, трансплантируемых в головной мозг [23]. Было показано, что хоминг клеток в ишемизированном полушарии наблюдался уже через 2 ч после развития инсульта, однако, хоминг значительно уменьшался через 24 ч после инсульта. В течение периода наблюдения (120 дней), не наблюдалось никаких существенных побочных эффектов, связанных с клеточной трансплантацией.

Похожие результаты были получены Battistella и соавт [24] для периода наблюдения в 180 дней после внутриартериального введения МСК в течение хронической фазы инсульта. В целом, было показано, что внутриартериальная трансплантация МСК пациентам с неврологическими последствиями ишемического инсульта не обладает значительным преимуществом по сравнению с внутривенной [25], что также было ранее показано и в исследованиях на животных [26].

В другом клиническом исследовании Suarez-Monteagudo и соавт трансплантировали аутологичные МСК стереотаксически

в мозг пяти пациентов, перенесших инсульт, после чего наблюдали их в течение года [27]. Хотя авторы утверждали наличие дискретного функционального улучшения в течение длительного времени, научная оценка этого исследования, конечно, затруднена, в связи с небольшим числом пациентов и отсутствием адекватной контрольной группы.

Нейральные прогениторные клетки и другие стволовые клетки для терапии инсульта

По сравнению с МСК, другие типы стволовых клеток реже использовали для терапии инсульта в клинических исследованиях. В частности, НПК, полученные из СВЗ боковых желудочков мозга, индуцируют мощный нейропротекторный эффект и ремоделирование головного мозга, как при системном, так и при локальном (интрацеребральном) введении. Этот аспект заслуживает особого внимания, так как по отношению к НПК до сих пор достоверно не показана возможность их интеграции в нейронные сети, действие в основном происходит через паракринные механизмы [9, 10].

Два последовательных клинических испытания продемонстрировали возможность стереотаксического введения культивируемых нейральных стволовых клеток [28, 29]. В первом исследовании авторы провели имплантацию 2-6 млн клеток непосредственно в зону повреждения 12 больным с хроническими инфарктами в области базальных ганглиев [28]. Через 24 недели наблюдалось улучшение у шести пациентов (по Европейской шкале инсульта), отсутствие изменений – у трех пациентов, и ухудшение – еще у трех пациентов. По шкале NIH, у восьми пациентов наблюдалось улучшение, один пациент был неизменным, и состояние трех ухудшилось. Один из исследуемых пациентов умер через 27 месяцев после трансплантации клеток от острого инфаркта миокарда. Вскрытие показало наличие нейральных клеток в ткани головного мозга в месте трансплантации. В целом, смертей и других неблагоприятных событий, связанных с трансплантацией клеток, не было зафиксировано.

Впоследствии теми же исследователями была проведена вторая фаза рандомизированного слепого исследования на 18 пациентах: 9 пациентов с ишемическим инсультом и 9 пациентов с геморрагическим инсультом [29].

Пациентам в клеточной группе имплантировали в зону инфаркта 5, либо 10 млн клеток. Наблюдалось ощутимое улучшение у некоторых пациентов; однако, не было улучшений моторной функции по сравнению с контрольной группой. В целом, хотя трансплантация клеток и способствовала некоторому функциональному улучшению, основной оценкой результатов исследования была констатация того факта, что изменение моторного показателя по Европейской шкале инсульта (ESS) не было достигнуто, что, возможно, связано с небольшим количеством трансплантируемых клеток (в настоящее время при внутривенном введении рекомендуется применять 2-3 млн клеток на 1 кг массы тела пациента [18]).

В исследовании, проводимом Savitz с соавт, использовали фетальные свиные НПК, предварительно обработанные антителами к МНС class I для предотвращения отторжения трансплантата [54], при интрацеребральной трансплантации клеток пяти пациентам. Данное исследование было остановлено в результате значительных побочных эффектов у двух пациентов: у одного из них было отмечено временное ухудшение моторного дефицита через 3 недели после трансплантации, в то время как у другого были зафиксированы эпилептические припадки через 1 неделю после трансплантации [30].

В другом исследовании использовали интратекальную трансплантацию человеческих фетальных клеток, полученных из незрелых нервной и гемопоэтической тканей [31]. У всех 10 пациентов в течение 6-месячного периода наблюдения не было обнаружено серьезных побочных эффектов, хотя у некоторых повышалась температура и отмечались менингеальные знаки через 48 ч после проведения клеточной трансплантации [31].

Среди опубликованных клинических исследований (по данным clinicaltrials.gov), примечательным является исследование стереотаксической внутримозговой трансплантации аллогенных НПК (NCT01151124 и NCT02117635, соответственно I и II фазы исследования), проводимая компанией ReNeuron Limited. В других исследованиях применяли клетки, полученные из плаценты человека (NCT01310114) или нейральные клетки из обонятельной выстилки носа (NCT01327768). К сожалению, вышеупомянутые исследова-

ния используют интрапаренхимальный метод трансплантации клеток в ткань, что снижает их клиническую значимость, даже в том случае, если они окажутся успешными.

МСК для терапии ПСМТ

Использование МСК, получаемых из костного мозга и других источников, при терапии спинальной травмы, уже позволило получить некоторые позитивные клинические результаты. Несмотря на то, что после трансплантации МСК не была продемонстрирована возможность воссоздания нормальной архитектуры спинного мозга [32], положительный эффект трансплантации, как полагают, реализуется через нейропротекторные свойства МСК. Относительная простота подготовки необходимого объема клеток для терапии, а также внедрение менее инвазивных методов доставки клеточного материала сделали использование МСК достаточно привлекательным методом лечения. Техника артериографии предлагает более эффективный механизм доставки МСК по сравнению с более инвазивной, хотя и общепринятой, спинальной хирургией. На данный момент артериография, амбулаторная процедура, выглядит весьма предпочтительной, хотя еще предстоит доказать ее эффективность.

В некоторых исследованиях уже показано, что МСК могут дифференцироваться в НСК [33], причем полученные клетки могут экспрессировать маркеры как МСК, так и НСК [34]. Однако, экспериментальные данные, демонстрирующие дифференцировку МСК в НСК *in vivo* и после трансплантации в поврежденный спинной мозг, опубликованные в статье Hofstetter и соавт [35], еще не позволяют сделать окончательные выводы, поскольку не были продемонстрированы множественные нейрональные маркеры и не приведены соответствующие физиологические доказательства. Действительно, заявленная в этом исследовании трансдифференцировка в нейральные клетки была оспорена в других исследованиях, предлагающих более строгие критерии для таких доказательств [36, 37].

Тем не менее, в большинстве недавних клинических испытаний используются МСК [38-41]. Так, Chernykh и соавт [38], как и другие исследователи [39-41], использовали аутологичные МСК из костного мозга для терапии

спинальной травмы. Когда исследователи сравнили клинические результаты с контрольной группой, они сообщили об улучшении показателей по шкалам ASIA, Barthel и Ashworth у 66% пациентов [38].

Yoon и соавт [42] изучали лечебный эффект аутологичных МСК, используемых вместе с добавлением гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), основываясь на гипотезе, что включение GM-CSF могло бы улучшить результаты благодаря усилению нейропротекции, стимулированию эндогенных НСК и ингибированию развития глиальных рубцов. Разделив общую группу пациентов в I/II фазе исследования на пациентов с острой (до 14 дней), подострой (14 дней - 8 недель) и хронической (более 8 недель) травмой спинного мозга, они обнаружили более низкий процент атрофии дистального участка спинного мозга в терапевтической группе, по сравнению с контрольной группой. В целом, наблюдались улучшения в неврологическом статусе пациентов в терапевтической группе. Следует отметить, что один из пяти пациентов в данной группе имел нейропатическую боль, которая могла быть побочным эффектом введения GM-CSF в спинной мозг.

Cristante и соавт [43] проводили терапию 39 пациентам с хронической травмой спинного мозга при помощи трансплантации МСК, выделенных из периферической крови, а затем введенных в сегмент спинальной травмы с помощью артериографии, используя для введения по 2,5 миллиона МСК на 1 кг веса тела. Соматосенсорные вызванные потенциалы (ССВП), записанные в течение следующих 2,5 лет, показали увеличенную амплитуду у 66,7% пациентов. Однако, следует отметить, что в данном исследовании не было контрольной группы.

Обонятельные клетки слизистой оболочки носовой полости (ОЕС) для терапии ПСМТ

Обонятельные клетки слизистой оболочки носовой полости (ОЕС) выполняют естественную функцию посредников между периферической нервной системой (ПНС) и центральной нервной системой (ЦНС). Chhabra и соавт [44] получали ОЕС из abortивного материала, и, после очистки, трансплантировали эти клетки непосредственно в полость поражения при ПСМТ. Результаты I

фазы исследования не выявили никаких побочных эффектов трансплантации этих аллогенных клеток [44], хотя эти пациенты и нуждались в иммуносупрессии при пересадке клеток. Альтернативой послужила трансплантация аутологичных ОЕСс, выполненная Lima и соавт [45]. Исследователи показали незначительное среднее улучшение по шкале повреждения ASIA impairment scale (AIS) на 2 степени. К сожалению, необходимо отметить, что использование ОЕСс лимитируется их весьма ограниченным количеством в слизистой оболочке носа и сложностью их культивирования.

Нейральные стволовые и прогениторные клетки для терапии ПСМТ

Взрослые нейральные стволовые и прогениторные клетки (НСК и НПК) мультипотентны и могут быть выделены из двух нейрогенных областей: 1) субвентрикулярная зона боковых желудочков мозга; 2) субгранулярная зона зубчатой извилины гиппокампа. Кроме того, взрослые НСК существуют в ненейрогенных областях ЦНС, таких как стриатум, кора головного мозга и спинной мозг [46, 47]. Кроме их потенциала к самообновлению, взрослые НСК способны размножаться *in vitro* в присутствии эпидермального фактора роста (EGF) и основного фактора роста фибробластов (bFGF) [48-50]. После удаления ростовых факторов и/или добавления сыворотки, взрослые НСК дифференцируются в нейроны, астроциты, олигодендроциты *in vitro* [47, 51, 52]. Также НСК могут быть непосредственно получены из фетальной ткани человека, или из плюрипотентных источников, таких как человеческие эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC) [53].

В целом, НСК и НПК являются наиболее привлекательными в качестве трансплантата для терапии ПСМТ, так как они, будучи органоспецифическими клетками-предшественниками, в большей степени могут способствовать регенерации нервной ткани и регенерации нервных проводников в зоне повреждения.

По данным сайта clinicaltrials.gov, в настоящее время проводится или недавно завершено 4 клинических исследования, связанных с использованием НСК для терапии травмы спинного мозга.

В декабре 2010 года, StemCells, Inc. (Newark, CA) инициировала I/II фазу клинических

испытаний терапии нейральными стволовыми клетками человека (HuCNS-SC) пациентов с торакальной травмой спинного мозга. Клинические испытания проводились на основе предклинических исследований, показавших, что стволовые клетки, выделенные из фетального мозга человека, могут дифференцироваться в миелин-продуцирующие олигодендроциты и нейроны, *формирующие* новые *синапсы*, что приводит к функциональному восстановлению на моделях ПСМТ грызунов [54-58]. Клиническое исследование было начато в марте 2011 года и в настоящее время завершено. Пациенты получали суспензии клеток, вводимых непосредственно в место повреждения ПСМТ с проведением последующего курса транзиторной иммуносупрессии. Впоследствии, состояние пациентов оценивалось в течение срока свыше 1 года, для контроля безопасности и измерения восстановления чувствительности, двигательной функции, а также функций кишечника и мочевого пузыря. На данный момент опубликованы результаты, свидетельствующие о безопасности и некоторой эффективности клеточной терапии у 12 пациентов со степенью торакального повреждения спинного мозга А-С по шкале Американской Ассоциации Спинального Повреждения (American Spinal Injury Association impairment scale), в период наблюдения от 3 до 12 месяцев после получения травмы (по данным сайта clinicaltrials.gov).

Эта же компания (StemCells, Inc.; Newark, CA) начала в октябре 2014 года новое мультицентровое исследование терапии нейральными стволовыми клетками человека (HuCNS-SC) пациентов с шейной травмой спинного мозга (по данным сайта clinicaltrials.gov). В настоящее время ведется набор пациентов для данного исследования (планируется набрать 50 пациентов).

На основании предклинических данных, опубликованных van Gorp и соавт [59], а также Lu и соавт [60], демонстрирующих положительный эффект трансплантации НСК, выделенных из человеческого фетального спинного мозга и эмбриона человека, соответственно, для терапии ПСМТ, компания Neuralstem Inc. (Germantown, MD) начала в августе 2014 года I фазу клинических испытаний (по данным сайта clinicaltrials.gov). Это многоцентровое исследование, использующее трансплантацию

стволовых клеток для терапии ПСМТ, является близким по технологии к тому, что проводила ранее корпорация Geron (Menlo Park, CA). Данная компания прекратила в 2011 году клиническое исследование эффективности и безопасности использования клеток-предшественников олигодендроцитов человека (ОРС), полученных из ЭСК, для терапии ПСМТ.

В Федеральном научно-клиническом Центре ФМБА России с июля 2014 года, совместно с Novagenesis Foundation (Canada) и Ophiuchus Technologies AG (Switzerland), начато проведение I/II фаз клинического исследования эффективности и безопасности использования аутологических нейральных стволовых клеток, полученных из костного мозга пациентов по технологии прямого репрограммирования (dr-NSC), разработанной основателем Novagenesis Foundation Jan-Eric Ahlfors, для терапии пациентов с травматическим повреждением спинного мозга. В исследовании планируется задействовать 30 пациентов с острой, подострой и хронической ПСМТ. В настоящее время проведены хирургические операции, связанные с трансплантацией в спинной мозг dr-NSC 6 пациентам с хронической ПСМТ, с одновременным введением в зону травматического повреждения регенеративного матрикса RMx Biomatrix, разработанного Novagenesis Foundation.

Заключение

Анализ данных по доклиническим и клиническим исследованиям в области регенеративной медицины позволяет предположить, что развитие начатых в последние годы исследований приведет в скором времени к повышению эффективности лечения инсульта и ПСМТ с помощью клеточных технологий.

Литература

1. Stein J., Harvey R., Winstein C., Zorowitz R., Wittenberg G. Stroke Recovery and Rehabilitation, 2nd Edition. Demos Medical Publishing, New York, 2014, 3229 pp.
2. Hess D.C. (ed.), Cell Therapy for Brain Injury. Springer International Publishing Switzerland, 2015, 364 pp.

Терапевтическая эффективность стволовых клеток может быть улучшена. Нейрогенные клетки, полученные из ЭСК и из активно изучаемых в последнее время iPS, скорее всего, не будут в ближайшем будущем системно вводиться пациентам, перенесшим инсульт и ПСМТ, так как полученные образцы клеток могут содержать некоторое количество плюрипотентных клеток, которые потенциально онкогенны. Более перспективным представляется клиническое применение хорошо изученных в предклинических исследованиях МСК, а также аутологических нейральных стволовых клеток, полученных путём прямого репрограммирования клеток костного мозга (так называемые dr-NSC, от англ. *directly reprogrammed* NSC). Стратегии использования данных стволовых клеток для клинического применения и повышения их терапевтической эффективности, которые отвечают правилам регулирующих организаций, таких как FDA, требуют дальнейших доклинических и клинических испытаний. Эти стратегии должны использовать так называемый подход “from bench to bedside” («от лабораторного стола — к пациенту»), т.е. эффективное доведение результатов лабораторных исследований (отбор наиболее подходящих клеток для трансплантации и оптимизация условий их культивирования) до использования в лечении (правильный отбор пациентов, трансплантация клеток с учетом проницаемости ГЭБ, детальный анализ получаемых клинических результатов). Вместе с тем, можно выразить уверенность в том, что регенеративная медицина с применением клеточных технологий – единственный способ восстановить утраченные функции у пациентов с тяжелыми последствиями инсульта и ПСМТ.

3. Fehlings MG, Wilson JR, O'Higgins M (2012) Introduction: Spinal cord injury at the cutting edge of clinical translation: a focus issue collaboration between NACTN and AO Spine North America. *J Neurosurg Spine* 17: 1-3.
4. Alvarez-Buylla, A., and Garcia-Verdugo, J. M. (2002). Neurogenesis in adult subventricular zone. *J. Neurosci.* 22, 629–634.

5. Liu, J., Solway, K., Messing, R. O., and Doetsch, F., García-Verdugo, J. M., and Alvarez-Buylla, A. (1997). Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J. Neurosci.* 17, 5046–5061.
6. Sharp, F. R. (1998). Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. *J. Neurosci.* 18, 7768–7778.
7. Parent, J. M. (2003). Injury-induced neurogenesis in the adult mammalian brain. *Neuroscientist* 9, 261–272.
8. Blum, B., and Benvenisty, N. (2008). The tumorigenicity of human embryonic stem cells. *Adv. Cancer Res.* 100, 133–158.
9. Bacigaluppi, M., Pluchino, S., Martino, G., Kilić, E., and Hermann, D. M. (2008). Neural stem/precursor cells for the treatment of ischemic stroke. *J. Neurol. Sci.* 265, 73–77.
10. Doeppner, T. R., Ewert, T. A., Tönges, L., Herz, J., Zechariah, A., Elali, A., et al. (2012). Transduction of neural precursor cells with TAT-heat shock protein 70 chaperone: therapeutic potential against ischemic stroke after intrastriatal and systemic transplantation. *Stem Cells* 30, 1297–1310.
11. Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., et al. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy* 8, 315–317.
12. Doeppner, T. R., and Hermann, D. M. (2010). Mesenchymal stem cells in the treatment of ischemic stroke: progress and possibilities. *Stem Cells Cloning* 3, 157–163.
13. Aggarwal, S., and Pittenger, M. F. (2005). Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 105, 1815–1822.
14. Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R., Mosca, J. D., et al. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284, 143–147.
15. Caplan, A. I. (2009). Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *J. Pathol.* 217, 318–324.
16. Bang, O. Y., Lee, J. S., Lee, P. H., and Lee, G. (2005). Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann. Neurol.* 57, 874–882.
17. Spees, J. L., Gregory, C. A., Singh, H., Tucker, H. A., Peister, A., Lynch, P. J., et al. (2004). Internalized antigens must be removed to prepare hypoimmunogenic mesenchymal stem cells for cell and gene therapy. *Mol. Ther.* 9, 747–756.
18. Lee, J. S., Hong, J. M., Moon, G. J., Lee, P. H., Ahn, Y. H., Bang, O. Y., et al. (2010). A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells* 28, 1099–1106.
19. Shen, L. H., Li, Y., Chen, J., Zacharek, A., Gao, Q., Kapke, A., et al. (2007). Therapeutic benefit of bone marrow stromal cells administered 1 month after stroke. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 27, 6–13.
20. Delavaran, H., Sjunnesson, H., Arvidsson, A., Lindvall, O., Norrving, B., van Westen, D., et al. (2013). Proximity of brain infarcts to regions of endogenous neurogenesis and involvement of striatum in ischaemic stroke. *Eur. J. Neurol.* 20, 473–479.
21. Bhasin, A., Srivastava, M. V., Kumaran, S. S., Mohanty, S., Bhatia, R., Bose, S., et al. (2011). Autologous mesenchymal stem cells in chronic stroke. *Cerebrovasc. Dis. Extra* 1, 93–104.
22. Savitz, S. I., Misra, V., Kasam, M., Juneja, H., Cox, C. S. Jr., Alderman, S., et al. (2011). Intravenous autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic stroke. *Ann. Neurol.* 70, 59–69.
23. Barbosa da Fonseca, L. M., Gutfilem, B., Rosado de Castro, P. H., Battistella, V., Goldenberg, R. C., Kasai-Brunswick, T., et al. (2010). Migration and homing of bone-marrow mononuclear cells in chronic ischemic stroke after intra-arterial injection. *Exp. Neurol.* 221, 122–128.
24. Battistella, V., de Freitas, G. R., da Fonseca, L. M., Mercante, D., Gutfilem, B., Goldenberg, R. C., et al. (2011). Safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with nonacute ischemic stroke. *Regen. Med.* 6, 45–52.
25. Moniche, F., Gonzalez, A., Gonzalez-Marcos, J. R., Carmona, M., Piñero, P., Espigado, I., et al. (2012). Intra-arterial bone marrow mononuclear cells in ischemic stroke: a pilot clinical trial. *Stroke* 43, 2242–2244.
26. Yang, B., Migliati, E., Parsha, K., Schaar, K., Xi, X., Aronowski, J., et al. (2013). Intra-arterial delivery is not superior to intravenous delivery of autologous bone marrow mononuclear cells in acute ischemic stroke. *Stroke* 44, 3463–3472.
27. Suárez-Monteagudo, C., Hernández-Ramírez, P., Alvarez-González, L., García-Maeso, et al. (2009). Autologous bone marrow stem cell neurotransplantation in stroke patients. *Restor. Neurol. Neurosci.* 27, 151–161.
28. Kondziolka, D., Wechsler, L., Goldstein, S., Meltzer, C., Thulborn, K. R., Gebel, J., et al. (2000). Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 55, 565–569.
29. Kondziolka, D., Steinberg, G. K., Wechsler, L., Meltzer, C. C., Elder, E., Gebel, J., et al. (2005). Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial. *J. Neurosurg.* 103, 38–45.
30. Savitz, S. I., Dinsmore, J., Wu, J., Henderson, G. V., Stieg, P., and Caplan, L. R. (2005). Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: a preliminary safety and feasibility study. *Cerebrovasc. Dis.* 20, 101–107.
31. Rabinovich, S. S., Seledtsov, V. I., Banul, N. V.,

- Poveshchenko, O. V., Senyukov, V. V., Astrakov, S. V., et al. (2005). Cell therapy of brain stroke. *Bull. Exp. Biol. Med.* 139, 126–128.
32. Harrop JS, Hashimoto R, Norvell D, Raich A, et al. (2012) Evaluation of clinical experience using cell-based therapies in patients with spinal cord injury: a systematic review. *J Neurosurg Spine* 17: 230-246.
33. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford T, et al. (2000) Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol* 164: 247-256.
34. Song S, Song S, Zhang H, Cuevas J, Sanchez-Ramos J (2007) Comparison of neuron-like cells derived from bone marrow stem cells to those differentiated from adult brain neural stem cells. *Stem Cells Dev* 16: 747-756.
35. Hofstetter CP, Schwarz EJ, Hess D, Widenfalk J, El Manira A, et al. (2002) Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 2199-2204.
36. Krabbe C, Zimmer J, Meyer M (2005) Neural transdifferentiation of mesenchymal stem cells - a critical review. *APMIS* 113: 831-844.
37. Phinney DG, Prockop DJ (2007) Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair-current views. *Stem Cells* 25: 2896-2902.
38. Chernykh ER, Stupak VV, Muradov GM, Sizikov MY, Shevela EY, et al. (2007) Application of autologous bone marrow stem cells in the therapy of spinal cord injury patients. *Bull Exp Biol Med* 143: 543-547.
39. Dai G, Liu X, Zhang Z, Yang Z, Dai Y, et al. (2013) Transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of complete and chronic cervical spinal cord injury. *Brain Res* 1533: 73-79.
40. Jang YO, Kim YJ, Baik SK, Kim MY, Eom YW, et al. (2014) Histological improvement following administration of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: a pilot study. *Liver Int* 34: 33-41.
41. Kishk NA, Gabr H, Hamdy S, Afifi L, Abokresha N, et al. (2010) Case control series of intrathecal autologous bone marrow mesenchymal stem cell therapy for chronic spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair* 24: 702-708.
42. Yoon SH, Shim YS, Park YH, Chung JK, Nam JH, et al. (2007) Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial. *Stem Cells* 25: 2066-2073.
43. Cristante AF, Barros-Filho TE, Tatsui N, Mendrone A, Caldas JG, et al. (2009) Stem cells in the treatment of chronic spinal cord injury: evaluation of somatosensitive evoked potentials in 39 patients. *Spinal Cord* 47: 733-738.
44. Chhabra HS, Lima C, Sachdeva S, Mittal A, Nigam V, et al. (2009) Autologous olfactory [corrected] mucosal transplant in chronic spinal cord injury: an Indian Pilot Study. *Spinal Cord* 47: 887-895.
45. Lima C, Escada P, Pratas-Vital J, Branco C, Arangelis CA, et al. (2010) Olfactory mucosal autografts and rehabilitation for chronic traumatic spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair* 24: 10-22.
46. Palmer, T. D., Markakis, E. A., Willhoite, A. R., Safar, F., & Gage, F. H. (1999). Fibroblast growth factor-2 activates a latent neurogenic program in neural stem cells from diverse regions of the adult CNS. *Journal of Neuroscience*, 19 (19), 8487–8497.
47. Weiss, S., Dunne, C., Hewson, J., Wohl, C., Wheatley, M., Peterson, A. C., et al. (1996). Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. *Journal of Neuroscience*, 16 (23), 7599–7609.
48. Roy, N. S., Wang, S., Jiang, L., Kang, J., Benraiss, A., Harrison-Restelli, C., et al. (2000). In vitro neurogenesis by progenitor cells isolated from the adult human hippocampus. *Nature Medicine*, 6 (3), 271–277.
49. Wachs, F. P., Couillard-Despres, S., Engelhardt, M., Wilhelm, D., Ploetz, S., Vroemen, M., et al. (2003). High efficacy of clonal growth and expansion of adult neural stem cells. *Laboratory Investigation*, 83 (7), 949–962.
50. Gritti, A., Parati, E. A., Cova, L., Frolichsthal, P., Galli, R., Wanke, E., et al. (1996). Multipotential stem cells from the adult mouse brain proliferate and self-renew in response to basic fibroblast growth factor. *Journal of Neuroscience*, 16 (3), 1091–1100.
51. Johansson, C. B., Svensson, M., Wallstedt, L., Janson, A. M., & Frisen, J. (1999). Neural stem cells in the adult human brain. *Experimental Cell Research*, 253 (2), 733–736.
52. Reynolds, B. A., & Weiss, S. (1992). Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*, 255 (5052), 1707–1710.
53. Tsuji, O., Miura, K., Fujiyoshi, K., Momoshima, S., Nakamura, M., & Okano, H. (2011). Cell therapy for spinal cord injury by neural stem/progenitor cells derived from iPS/ES cells. *Neurotherapeutics*, 8 (4), 668–676.
54. Cummings, B. J., Uchida, N., Tamaki, S. J., Salazar, D. L., Hooshmand, M., Summers, R., et al. (2005). Human neural stem cells differentiate and promote locomotor recovery in spinal cord injured mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (39), 14069–14074.
55. Cummings, B. J., Uchida, N., Tamaki, S. J., & Anderson, A. J. (2006). Human neural stem cell differentiation following transplantation into spinal cord injured mice: Association with recovery of locomotor

function. *Neurological Research*, 28 (5), 474–481.

56. Hooshmand, M. J., Sontag, C. J., Uchida, N., Tamaki, S., Anderson, A. J., & Cummings, B. J. (2009). Analysis of host-mediated repair mechanisms after human CNS-stem cell transplantation for spinal cord injury: Correlation of engraftment with recovery. *PLoS One*, 4 (6), e5871.

57. Salazar, D. L., Uchida, N., Hamers, F. P., Cummings, B. J., & Anderson, A. J. (2010). Human neural stem cells differentiate and promote locomotor recovery in an early chronic spinal cord injury NOD-scid mouse model. *PLoS One*, 5 (8), e12272.

58. Uchida, N., Buck, D. W., He, D., Reitsma, M. J.,

Masek, M., Phan, T. V., et al. (2000). Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97 (26), 14720–25.

59. Van Gorp S, Leerink M, Kakinohana O, Platoshyn O, Santucci C, et al. (2013) Amelioration of motor/sensory dysfunction and spasticity in a rat model of acute lumbar spinal cord injury by human neural stem cell transplantation. *Stem Cell Res Ther* 4: 57.

60. Lu P, Wang Y, Graham L, McHale K, Gao M, et al. (2012) Long-distance growth and connectivity of neural stem cells after severe spinal cord injury. *Cell* 150: 1264-73.

Информация об авторах:

*Конопляников Михаил Анатольевич – зав. лабораторией клеточных технологий ФНКЦ ФМБА России.
Тел.: +7495 395 0127. E-mail: mkonopl@mail.ru*

*Баклаушев Владимир Павлович – д.м.н., заместитель генерального директора по научной работе и медицинским технологиям ФГБУ ФНКЦ ФМБА России;
доцент кафедры медицинских нанобиотехнологий МФ РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Тел.: +7495 395 6207. E-mail: serpoff@mail.ru*

*Аверьянов Александр Вячеславович – зав. отделением пульмонологии ФНКЦ ФМБА России,
Руководитель Центра биомедицинских технологий ФНКЦ ФМБА России
E-mail: averyanovav@mail.ru*

Кальсин Владимир Анатольевич – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФНКЦ ФМБА России

Тихоновский Михаил Андреевич – научный сотрудник группы нейрореабилитации отдела реабилитации и спортивной травмы ФНКЦ ФМБА России