



Стратегическое
общественное
движение

www.2045.ru

ОБЗОР ПО ТЕМЕ

**ВОЗМОЖНОСТИ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦИИ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА
И УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ**

Автор Е.В. Лосева Е.В., д.б.н.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
Москва, Россия, 2012 год

Оглавление

Задачи нейротрансплантологии

Нейротрансплантация незрелой нервной ткани различного генеза. Экспериментальные работы конца XX века

Концепция о влиянии нейротрансплантатов на мозг реципиентов

Нейротрансплантация культивированных стволовых клеток разного генеза. Экспериментальные работы начала XXI века

- *Нейральные стволовые клетки из эмбрионального мозга*
- *Мултипотентные стволовые клетки с нейрогенным потенциалом из других тканевых источников*
- *Индукцированные стволовые клетки из соматических клеток взрослых доноров*
- *Прямое репрограммирование соматических клеток в НСК и функционально-активные нейроны*

Опыт применения нейротрансплантации в клинике для лечения заболеваний ЦНС

- *Травмы головного и спинного мозга*
- *Болезнь Паркинсона*
- *Болезнь Альцгеймера*
- *Инсульты и инфаркты мозга*
- *Эпилепсия*
- *Другие заболевания*

Перспективы нейротрансплантации в нейротехнологических подходах для увеличения продолжения жизни мозга

Литература

Задачи нейротрансплантологии

На заре развития нейротрансплантологии основной задачей исследователей была замена поврежденных тканей и участков мозга новыми, неповрежденными. Родоначальником нейротрансплантологии считают американского нейрохирурга Томпсона, который еще в конце XIX столетия в экспериментах на животных производил безуспешные пересадки нервной ткани от взрослого донора в мозг взрослого реципиента [Сухих, 1998, обзор]. Работы по нейротрансплантации уже эмбриональной донорской ткани были продолжены в 40-х и 50-х годах XX века. Так, в обзоре Глиса [Глис, 1959] приведены литературные и собственные данные об аллогенных (внутривидовых) пересадках различных структур мозга эмбрионов в мозг млекопитающих. В этих пионерских работах отмечали способность трансплантатов незрелой нервной ткани усиливать процессы регенерации в ЦНС.

Новый бурный этап в развитии нейротрансплантологии наступил в 80-е годы прошлого века и продолжался до самого начала нынешнего столетия [Виноградова, 1984; Александрова, 2001; Björklund, Stenevi, 1984; Azmitia, Björklund, 1987; Bray, 1990; Полежаев и др., 1993; Журавлева, 1999, Отеллин, 1999; Лосева, 2001; Угрюмов, 2001; Ермакова, 2001 и др.]. В этот период в качестве донорского материала использовали фрагменты и суспензию незрелых нервных тканей, культуры нейронов и глиальных клеток, выделенных из незрелого мозга, и некоторые другие.

После открытия стволовых клеток буквально в последнее десятилетие в нейротрансплантологии произошел прорыв. В последних обзорах обобщены многочисленные исследования, где в качестве донорского материала используют стволовые клетки различного происхождения [Сухих, Малайцев, 2001; Grisolia, 2002; Sugaya, 2003; Lindvall et al., 2004; Martino, Pluchino, 2006; Rosser et al., 2007; Jain, 2009; Ruff, Fehlings, 2010; Feng, Gao, 2012 и др.].

В эти оба периода перед учеными-нейротрансплантологами стояли следующие основные задачи:

- 1) разработать оптимальные условия для успешного приживления и развития трансплантатов различного генеза в мозге животных в норме и при патологии;
- 2) исследовать поведенческие, биохимические и морфологические эффекты нейротрансплантации различного донорского материала в нормальный и патологически измененный мозг животных-реципиентов;
- 3) исследовать тонкие механизмы развития донорских тканей и/или культур клеток разного генеза в нормальной и патологически-измененной ЦНС животных;

4) внедрить полученные в экспериментах на животных результаты в клинику с целью лечения заболеваний ЦНС (нейродегенеративных, воспалительных, онкологических) и улучшения качества и продолжительности жизни в пожилом возрасте.

Недавно открыли, что в зрелом мозге происходит нейрогенез – образование и деление нейральных стволовых клеток, миграция клеток-предшественников, их дифференцировка в зрелые нейроны и глиальные клетки, которые могут встраиваться в нервные сети некоторых структур мозга [Taupin, 2005]. Нейрогенез к старости замедляется и нарушается при многих заболеваниях ЦНС [Lee S.W. et al., 2012; Shrueter et al., 2010]. Поэтому еще одной задачей последнего десятилетия является использование нейротрансплантации стволовых клеток для воздействия на этот процесс в норме и при разнообразных патологиях ЦНС.

Для успешной нейротрансплантации при решении конкретных задач важно: подобрать адекватный донорский материал; определить способ, место и время его введения в ЦНС; подобрать при необходимости дополнительные условия подготовки донорского материала для лучшей выживаемости трансплантатов в мозге реципиента.

Нейротрансплантация незрелой нервной ткани различного генеза. Экспериментальные работы конца XX века

В конце прошлого века были накоплены убедительные факты, свидетельствующие о возможности длительного переживания аллотрансплантатов (кусочков или клеточной суспензии) развивающейся ткани различного генеза в интактном и патологически измененном мозге экспериментальных животных [Полежаев, Александрова, 1986; Bragin, Stafekhina, 1990; Виноградова, 1984; Schulz et al., 1996; Björklund, Stenevi, 1984]. Плотные тканевые трансплантаты длительно переживают и в передней камере глаза [Журавлева, 1999].

В экспериментах на животных были отмечены выраженные терапевтические эффекты нейротрансплантации. Это – предотвращение образования грубых глиофиброзных рубцов на границе трансплантата с мозгом реципиента [Krüger et al., 1986], усиление процессов регенерации в поврежденном мозге [Полежаев, Александрова, 1986], ускоренное восстановление свойств гемато-энцефалического барьера [Saburina, 1989], восстановление ряда поведенческих функций, нарушенных при моделировании различных патологий ЦНС – черепно-мозговые травмы, болезнь Паркинсона и т.д. [Полежаев и др., 1993; Ермакова, 2001, Угрюмов, 2001]. Известно, что при ряде нейродегенеративных заболеваний наблюдается дефицит некоторых веществ в мозге. Например, при болезни Паркинсона не хватает дофамина, а при хорее Гентингтона – гамма-аминомасляной кислоты. Моделирование этих болезней в эксперименте осуществляют путем введения

определенных нейротоксинов в соответствующие участки мозга. При пересадке в область повреждения ткани или ее суспензии из тех участков эмбрионального мозга, которые богаты этими веществами (в случае болезни Паркинсона – стриатум, черная субстанция, в случае хореи Гентингтона – ганглионарные бугорки), улучшаются поведенческие функции, нарушенные в результате введения нейротоксинов [Никка, Пирот, 2010; Freed, Rosenstein, 1993]. Кроме того, обнаружены противовоспалительные [Лосева и др., 1989] и антиоксидантные [Гуляева и др., 1990] свойства нейротрансплантатов.

Влияние трансплантатов на мозг реципиентов в значительной степени связывают с тем, что развивающаяся донорская нервная ткань содержит множество физиологически активных веществ (факторов роста, медиаторов, гормонов, нейропептидов, ферментов, цитокинов). Эти вещества, попадая в мозг реципиента, могут изменять его функции, воздействуя на соответствующие клеточные рецепторы [Лосева, 2001, обзор].

Для того чтобы метод нейротрансплантации мог успешно использоваться в клинике для лечения нейродегенеративных и других заболеваний, важно определить: насколько травматична собственно операция нейротрансплантации для реципиента; при каких именно травмах и патологиях мозга ее целесообразно использовать; какие схемы нейротрансплантации следует применять в каждом конкретном случае для достижения наилучших результатов; каких схем необходимо избегать для предотвращения отрицательных последствий нейротрансплантации; какие способы можно использовать для предотвращения отторжения нейротрансплантатов без ущерба для здоровья реципиентов.

Как правило, морфология мозга больных людей после нейротрансплантации неизвестна. Есть редкие работы по изучению мозга реципиента после его смерти. Например, при болезни Паркинсона показана интеграция и длительное сохранение трансплантатов дофаминергических нейронов из эмбрионального мозга в стриатуме мозга человека (постмортальный материал) [Hagell, Brundin, 2001]. Поскольку при нейротрансплантации в клинике морфологию мозга у пациентов исследовать невозможно, а восстановление нарушенных в результате травм или патологических состояний мозга функций происходит в разной степени и не всегда успешно, то структурно-функциональную связь между состоянием мозга реципиентов, состоянием трансплантатов, поведенческими и прочими функциями можно установить только в экспериментах на животных.

Наиболее часто структурно-функциональные нарушения в мозге подопытных животных и моделирование различных нейродегенеративных расстройств вызывают путем его повреждения различными способами: механическим, электролитическим,

химическим. Наиболее выраженное положительное действие нейротрансплантатов на поврежденный мозг наблюдаются на ранних этапах после пересадок, однако часто эффект бывает стойким и сохраняется длительное время. Для продолжительного положительного воздействия на мозг реципиента трансплантат, прежде всего, не должен отторгаться.

Одним из основных условий успешного приживления трансплантатов является сходство доноров и реципиентов по антигенам главного комплекса гистосовместимости. Это условие соблюдается при сингенной (внутрилинейной) и, часто, аллогенной (внутривидовой) нейротрансплантации [Winder, Brundin, 1988; Finsen 1995]. С помощью аллогенной нейротрансплантации фрагментов незрелой ткани в поврежденный различными способами мозг экспериментальных животных можно осуществить коррекцию структурно-функциональных нарушений в посттравматическом периоде. При этом необходимо подобрать такую схему операции, при которой трансплантат будет в жизнеспособном состоянии в течение всей жизни реципиента. Как правило, это гомотопическая трансплантация (например, кора в кору) в область повреждения мозга реципиента, выполненная в ранние сроки после травмы. Хорошие эффекты дает и гомотопическая трансплантация одному реципиенту разных участков эмбрионального мозга, которые имеют естественные нервные связи в зрелом мозге реципиента. При этом следует учитывать, что, более молодая эмбриональная нервная ткань (например, от 15-дневных эмбрионов крыс) разрастается значительно в большей степени, чем более развитая (например, ткань от 21-дневных плодов крыс и новорожденных крысят) [Отеллин, 1999; Лосева, 2001, обзоры].

Применение аллогенного abortированного донорского материала от человека в клинике сопряжено с целым рядом этических проблем и технических трудностей [Turner, Kearney, 1993]. Так, использование abortированной ткани в ряде стран невозможно, поскольку abortы там запрещены. Кроме того, если abortы и разрешены, то получить полноценную донорскую ткань бывает затруднительно в силу ряда причин. Например, на использование эмбриональной ткани необходимо согласие матери; в процессе abortа мозг эмбриона может повредиться; разрешено использовать лишь эмбриональную и фетальную ткань, но не ткань плода (за исключением самопроизвольных выкидышей); донорскую ткань трудно быстро доставить к месту операции и так далее. Кроме того, для одной только трансплантации по поводу болезни Паркинсона в клинике рекомендуют использовать мозг от 3–4 эмбрионов человека [Lindvall et al., 1992]!

Поэтому, нейротрансплантологами разрабатываются различные способы, которые могут помочь полностью или частично устранить указанные препятствия. В частности, выделенную из мозга эмбриона ткань замораживают в определенном режиме. После

размораживания такой ткани около 60% нервных клеток сохраняют свою жизнеспособность [Акимова и др., 1998]. Ведется также поиск ксеногенной (от животных других видов) ткани, способной полноценно заменить абортированную донорскую ткань [Pakzaban, Isacson, 1994]. Как правило, эти работы ограничиваются подбором пар донор-реципиент внутри класса млекопитающих [Гилерович и др., 1996; Пучков и др., 1996], которые сильно отличаются друг от друга по антигенам главного комплекса гистосовместимости. При этом важно учитывать возраст эмбрионов и особенности развития разных структур мозга. Так, показано, что наилучшие результаты (приживление, развитие трансплантата, реализация в нем генетической программы развития ткани, пролиферация, миграция и дифференцировка клеточных элементов, формирование синапсов) дают гомотопические пересадки закладок неокортекса эмбрионов человека 8–9 недель внутриутробного развития, спинного мозга – 6–7 недель, мезенцефалона – 6–7 недель, мозжечка – 8-10 недель в мозг крыс-реципиентов. Причем суспензии эмбриональной нервной ткани в качестве донорского материала предпочтительнее ее фрагментов по целому ряду причин. Основная причина заключается в том, что процедура трансплантации суспензии диссоциированных клеток менее травматична для ткани и барьеров мозга реципиентов, что приводит к формированию не грубого, а мягкого рубца, через который возможна миграция клеток и рост их отростков [Отеллин, 1999]. Однако более позднее исследование, в котором используется аллогенная трансплантация на мышцах, не подтверждает лучшего приживления аллотрансплантатов в виде суспензии по сравнению с целыми фрагментами нервной ткани. Более того, тканевые трансплантаты демонстрируют лучшую способность к развитию [Сухинич и др., 2011].

В качестве донорской ткани использовали не только плотные трансплантаты и клеточные суспензии, но и органотопические культуры фетальных тканей [Victorov, Lyjin, 1990], культуры нервных, глиальных клеток [Bradbury et al., 1995, Ермакова и др., 2005] и полипотентных стволовых клеток, выделенных из эмбриональных закладок мозга [Сухих, 1998, обзор].

Возраст реципиентов тоже очень важен. В экспериментах с алло- и ксеногенной трансплантацией лучше приживаются трансплантаты в мозге молодых животных-реципиентов по сравнению с особями среднего и старшего возрастов. Поэтому в клинике лучшие результаты трансплантации можно ожидать у детей и молодых людей [Отеллин, 1999].

Как показывают литературные и собственные данные, если трансплантат успешно приживляется в поврежденном мозге, то состояние реципиента либо улучшается, либо, по крайней мере, не ухудшается. Исключения составляют случаи, если трансплантат

разрастается настолько, что начинает сдавливать окружающие ткани мозга реципиента, или отторгается. В случаях отторжения трансплантата в мозге возникает дополнительный очаг некроза ткани, что неизбежно должно приводить к снижению интенсивности компенсаторно-восстановительных процессов: усилению иммунологических реакций, усугублению дисбаланса медиаторов и модуляторов, развитию вторичных дегенеративных изменений, ухудшению поведения реципиентов. Поэтому чрезвычайно важно не допустить отторжения нейротрансплантатов в патологически-измененном мозге.

Главным образом, нейротрансплантат в ЦНС может отторгаться в случаях, если:

- 1) трансплантат получен от донора, значительно отличающегося от реципиента по антигенам главного комплекса гистосовместимости;
- 2) используется гетеротопическая аллотрансплантация, особенно если донорская ткань берется не из мозга, а из других органов, например из мозгового вещества надпочечников, периферических нервов и т.д.
- 3) подобраны неправильные условия проведения операции трансплантации.

Возможно отторжение как аллогенных, особенно гетерогенных, трансплантатов, так и ксеногенных трансплантатов [Lawrence et al., 1990; Finsen et al., 1990; Marion et al., 1990]. При этом если в эксперименте дополнительные воздействия применяли только при ксенотрансплантации, то в клинике такие воздействия являлись обязательными и при аллотрансплантации абортированной нервной ткани. Для предупреждения отторжения неродственных трансплантатов использовали дополнительные воздействия, как на организм реципиента, так и на донорскую ткань.

Реципиент после операции, а иногда и до нее, чаще всего получал курс иммуносупрессии циклоспорином А, который, как известно, обладает не только нефротоксичным и гипертензивным действием [Lund, Banerjee, 1992], но и приводит к повреждению нервной ткани [Truwit et al., 1991]. Разработаны и новые, более эффективные и менее токсичные иммунодепрессанты – вещество FK-506, 15-деоксиспергуалин, комплексы веществ, в которые, наряду с циклоспорином А, входят менее токсичные вещества – стероиды и азотиоприн [Лосева, 2001, обзор]. Альтернативным лекарственному подходу является метод использования моноклональных антител к различным компонентам иммунной системы [Lund, Banerjee, 1992; Pakzaban, Isacson, 1994].

Кроме иммуносупрессии, стали применять некоторые приемы физиотерапии. Так, появился цикл работ [Rochkind, Ouaknine, 1992], в котором изучалось влияние низкочастотных лазерных излучений на приживание трансплантатов периферических

нервов, помещенных в поврежденный спинной мозг собак. У животных, подвергшихся лазерной обработке, наблюдали более тесную интеграцию трансплантатов с мозгом хозяина и улучшение двигательных функций. В наших исследованиях для предотвращения отторжения нервной ткани эмбриона цыпленка в мозге крыс успешно использовалось низкочастотное переменное магнитное поле, которым в течение одной минуты обрабатывали донорскую ткань, подготовленную для трансплантации [Лосева и др., 1997].

Имеются редкие работы, в которых реципиент после трансплантации получал курс физиологически-активных веществ (ФАВ). Например, септальные суспензированные трансплантаты, помещенные в гиппокамп крыс после разрушения фимбрии-форникса, имели большой объем и диаметр крупных пирамидных нейронов, если реципиенты получали курс внутривентрикулярных инъекций нейропептида субстанция Р [Sprick et al., 1996].

Хороший эффект давала множественная атравматическая микротрансплантация смеси эпителиоидных астроцитов (1 тип) и незрелых нейронов гиппокампа в мозг взрослых крыс: нейроны длительно переживали, очагов отторжения не наблюдали [Emmett et al., 1990].

Чужеродная донорская ткань непосредственно до операции также может быть подвергнута различным дополнительным воздействиям. Например, если культуру хромафинных клеток надпочечников преинкубировать с фактором роста нервов или обработать низкочастотным магнитным полем, то в обоих случаях увеличивался рост нейритов. Однако если обработанные этими способами клетки трансплантировать в хвостатое ядро крысам, у которых был разрушен 6-гидроксидофамином нигро-стриатный путь, то несмотря на то, что моторная асимметрия, индуцированная повреждением, уменьшается, но различий по этому показателю между крысами с обработанными и необработанными трансплантатами не обнаруживается [Drucker-Colin et al., 1994]. То есть функциональное улучшение связано непосредственно с трансплантацией, а не с предварительной обработкой трансплантатов.

Таким образом, сведения о предупреждении отторжения нейрональных трансплантатов, за исключением работ с применением иммуносупрессии, были немногочисленны и противоречивы. Иммуносупрессия, хотя и способствовала приживлению трансплантатов, но негативно влияла на организм реципиента. Обработка ткани нетрадиционными методами до операции хотя и приводила к росту отростков нервных клеток, но не улучшала поведенческих реакций. Между тем эта проблема на этапе развития трансплантологии была чрезвычайно актуальна.

Концепция о влиянии нейротрансплантатов на мозг реципиентов

Анализ литературных данных и собственных результатов позволил нам предложить в 2001 году концепцию о воздействии нейротрансплантатов различного генеза на мозг реципиентов [Лосева, 2001].

В незрелой нервной ткани содержатся как неспецифические факторы (противовоспалительные, ростовые, иммуносупрессорные и т.д.), характерные для всего развивающегося мозга, так и специфические вещества (нейромедиаторы, нейропептиды, ферменты, гормоны и др.), свойственные определенным структурам мозга и играющие важную роль в процессах дифференцировки и развития тканей и клеток этих структур. Исходя из этого нейротрансплантаты, попадая в мозг реципиента, могут оказывать на него как неспецифическое, так и специфическое воздействие. Неспецифическое и специфическое воздействие нейротрансплантатов может быть как прямым, так и модулирующим (деление условно).

Если для нейротрансплантации используется менее зрелая ткань, то выделенные из нее трансплантаты оказывают на мозг реципиента, особенно в первое время после введения, главным образом неспецифическое воздействие, связанное с содержащимся в ней комплексом веществ, способствующих процессам регенерации, тормозящих воспалительные реакции и т.д. Наличие таких факторов в эмбрионе на ранних этапах развития препятствует его отторжению из организма матери. Трансплантаты, полученные из более зрелой нервной ткани, могут оказывать на мозг в большей степени специфическое влияние. Это связано с наличием в такой ткани, наряду с неспецифическими факторами, веществ, которые в период развития плода должны способствовать процессам дифференцировки структур и клеток мозга, а также стимулировать синтез нейромедиаторов в соотношениях, специфических для конкретных мозговых образований.

Попадая из незрелого трансплантата в мозг реципиента, неспецифические факторы могут ускорять заживление ран, тормозить воспалительные процессы и отторжение трансплантатов и так далее. Специфические факторы, влияя непосредственно на уже дифференцированные клетки в мозге реципиента, могут стимулировать синтез определенных нейромедиаторов и белков, способствовать образованию и созреванию новых активных рецепторов и других клеточных элементов (например, синапсов), обеспечивать полноценную синаптическую и объемную передачу и тем самым улучшать интегративную деятельность поврежденного или патологически измененного мозга.

Трансплантаты незрелой нервной ткани, оказывая на мозг реципиента прямое (как специфическое, так и неспецифическое) воздействие, добавляют содержащиеся в них функционально активные вещества (медиаторы, гормоны, факторы роста, противовоспалительные вещества и т.д.), находящие соответствующие мишени в мозге, или захватывают избыток веществ из окружающих тканей. На ранних этапах после введения прямое воздействие обусловлено химическим составом трансплантата или способностью его клеток захватывать избыток определенных веществ. На поздних этапах, когда трансплантат образует как нервные, так и гуморальные связи с мозгом реципиента, и клетки трансплантата сами становятся продуцентами физиологически активных факторов, то прямое воздействие обуславливается функциональной активностью нейротрансплантата. При этом неспецифическое воздействие ослабляется, так как незрелая ткань, богатая разнообразными факторами, с возрастом утрачивает первоначальное свое значение. В то же время специфическое воздействие сохраняется и усиливается по мере того, как трансплантат развивается, синтезирует необходимые вещества и поставляет их в мозг реципиента.

При модулирующем (неспецифическом и специфическом) воздействии трансплантата запускаются механизмы синтеза и распада веществ непосредственно в мозге реципиента, необходимые для поддержания в нем гомеостатического равновесия. По-видимому, модулирующее влияние трансплантата хорошо выражено на ранних этапах его переживания в мозге реципиента, когда уникальные свойства незрелой нервной ткани еще не утратили своего значения. В более поздние сроки, если трансплантат остается жизнеспособным, то запущенные в мозге хозяина механизмы регулирования гомеостатического равновесия поддерживаются. В это время трансплантат сам способен синтезировать и выделять в окружающую ткань комплекс веществ, модулирующий каскад как специфических, так и неспецифических химических процессов в мозге реципиента.

Если же в трансплантате начинаются процессы отторжения, то в мозге возникает иммунологический конфликт, сопровождающийся воспалением. Вследствие этого химическое равновесие в мозге реципиента может быть нарушено и эффекты от нейротрансплантации, которых удалось достичь, могут быть утрачены. Кроме того, с помощью только удачной нейротрансплантации возможно замещать утраченные в результате различных хирургических вмешательств участки ткани мозга. При этом трансплантат играет роль химико-структурно-функционального протеза. Он, образуя с мозгом хозяина нервные и гуморальные связи, препятствует развитию дегенеративных процессов в окружающих трансплантат участках мозга, происходящих при подобных повреждениях.

Нейротрансплантация культивированных стволовых клеток разного генеза. Экспериментальные работы начала XXI века

Термин «стволовая клетка» – применительно к лимфоциту как родоначальнику всех клеток крови млекопитающих – был введен в науку в 1909 году российским ученым Александром Максимовым. [Максимов, 1909]. С последних лет прошлого века нейротрансплантология получила новый стимул для бурного развития. Из разных тканей развивающегося и взрослого организма научились выделять и культивировать стволовые клетки, часть из которых могут быть использованы в клеточной терапии для лечения многочисленных нейродегенеративных и других заболеваний ЦНС [Galvin, Jones, 2002; Srivastava et al., 2008; De Feo et al., 2012; Dunnett, Rosser, 2011 и мн. др. обзоры]. Для успешного внедрения в клинику метода нейротрансплантации стволовых клеток активно разрабатываются следующие вопросы: какие стволовые клетки следует использовать для лечения той или иной болезни; как их вводить в ЦНС; какие условия необходимы для оптимального культивирования разных стволовых клеток; какие нужно создать условия для их лучшего приживания в мозге; как с помощью экзогенных стволовых клеток влиять на нейрогенез в зрелом мозге.

Стволовые клетки, как донорский материал, являются достойной альтернативой эмбриональной нервной ткани, поскольку их использование в клинике в значительной степени разрешает этические проблемы. Стволовые клетки можно наращивать в культуре, при этом они не теряют своих свойств в течение многих пассажей. Стволовые клетки получают как из эмбрионов, так и из разных тканей половозрелых особей. Из разных источников можно получать разные по свойствам стволовые клетки [Tutter et al., 2006; Zeng, Rao, 2007; Sensebé, Bourin, 2009; Mizuno, 2010, и др.].

Тотипотентные стволовые клетки, из которых состоит зигота, могут дать развитие целого организма. Плюрипотентные эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) получают из внутренней клеточной массы бластоциста. ЭСК имеют неограниченный пролиферативный потенциал и на стадии гастрюлы генерируют все типы мультипотентных стволовых клеток эмбриона и взрослого организма. При симметричном делении ЭСК производят себе подобные и не имеют специализации. При асимметричном митозе одна клетка остается стволовой, а другая – родоначальной, прогениторной клеткой (ПК). ПК способны быстро делиться симметрично, давая себе подобные, и имеют ограниченный пролиферативный потенциал. ПК коммитированы (детерминированы) к дифференцировке в одном или нескольких направлениях. Деления ПК заканчиваются образованием монопотентных клеток-предшественников, способных к развитию только в один тип дифференцированных клеток [Чернилевский, 2008].

У эмбрионов и взрослых млекопитающих и человека обнаружены мульти- и монопотентные нейральные стволовые клетки (НСК) в разных структурах головного мозга [Сухих, Малайцев, 2001, Rietze, Reynolds, 2006]. Они дают начало нейронам и глии и способны поддерживать локальный нейрогенез в течение всей жизни [Taupin, 2005].

Использование для нейротрансплантации ЭСК невозможно, так как может привести к развитию опухолей мозга [Correia et al., 2005, Kooreman, Wu, 2010]. ЭСК необходимо сначала дифференцировать в НСК и в нейральные предшественники. Из плюрипотентных ЭСК при определенном составе культуральной среды можно культивировать НСК [Muguruma, Sasai, 2012]. Однако их использование для нейротрансплантации также опасно, так как вместе с НСК в мозг могут попасть и ЭСК, из которых возможно развитие опухолей.

Нейральные стволовые клетки из эмбрионального мозга

Более перспективными при лечении нейродегенеративных и прочих болезней ЦНС являются НСК из эмбрионального мозга, которые выделяют из нейрогенных структур (перивентрикулярная зона или зубчатая фасция гиппокампа). НСК, размножаясь в культуре, формируют нейросферы, в которых иммуногистохимически можно обнаружить клетки с маркерами НСК, прогениторных клеток (предшественников нейронов и глии), клеток нейрональной и глиальной дифференцировки. Нейросферы или их диссоциированные клетки используются для нейротрансплантации. Такие клетки могут встраиваться в клеточные сети разных структур мозга, например гиппокампа [Lepski et al., 2011]. Использование для трансплантации эмбриональных НСК дает хорошие терапевтические эффекты при лечении нейродегенеративных заболеваний, которые сопоставимы с эффектами эмбриональных тканевых и суспензионных трансплантатов [Подгорный и др., 2004; Cossetti et al., 2012; De Feo et al., 2012 и мн. др.]. Однако использование для нейротрансплантации культур НСК, выделенных из эмбрионов человека, не снимает полностью этических проблем.

Мультипотентные стволовые клетки с нейрогенным потенциалом из других тканевых источников

Мультипотентные стволовые клетки из других тканевых источников эмбриона и взрослого организма при определенных условиях (добавления некоторых ростовых и прочих факторов в культуральную среду) тоже могут превращаться в НСК, формирующие нейросферы или монослой, на клетках которого обнаруживаются маркеры нейральной дифференцировки [Paspala et al., 2011].

В эксперименте, с целью устранения этических проблем при взятии донорского материала из эмбриона человека, ведется активный поиск тканевых источников с нейрогенным потенциалом от взрослого организма. Из стволовых клеток таких тканей можно получить в культуре НСК, которые могут стать альтернативой НСК из эмбрионального мозга [Moore et al., 2006]. Источником таких НСК могут быть мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) из костного мозга, мультипотентные стволовые клетки из жировой ткани, обкладочные клетки из обонятельного эпителия, стволовые клетки из сетчатки глаза, стволовые клетки из луковиц волос и т.д. [Delcroix et al., 2010; Ying et al., 2012; Marshall et al., 2006; Milyushina et al., 2012; Amoh et al., 2010]. Стволовые клетки из всех этих тканей, за исключением сетчатки глаза, можно получать прижизненно и использовать для аутологичной трансплантации без иммунодепрессии. Трансплантация культур таких клеток активно используется в эксперименте для лечения нейродегенеративных заболеваний. Много работ посвящено ММСК из костного мозга и обкладочным клеткам из обонятельного эпителия. ММСК используют для лечения гипоксических и ишемических повреждений мозга, при спинно-мозговой травме, инфарктах и инсультах мозга, рассеянном склерозе и т.д. [Honmou et al., 2012; Ven-Nur, 2011]. Например, в наших экспериментах был также показан терапевтический эффект трансплантации культуры ММСК из костного мозга взрослого человека (операционный материал) в мозг крыс, подвергшихся гипобарической гипоксии. Улучшалась выживаемость нейронов в неокортексе и условно-рефлекторное оборонительное поведение. Однако следует отметить, что аналогичные показатели были еще лучше при нейротрансплантации в мозг крыс после гипобарической гипоксии культуры НСК из эмбрионального мозга [Лосева и др., 2011].

В последние годы накоплен убедительный экспериментальный материал о возможности использования обкладочных клеток обонятельного эпителия (olfactory ensheathing cells (OECs)) для лечения ряда нейродегенеративных заболеваний – травм спинного мозга, инсультов и инфарктов мозга, латерального амиотрофического склероза [Shi et al., 2010; Shyu et al., 2008; Huang et al., 2009, Su, He 2010]. Эти клетки происходят из нервного гребня и проявляют свойства глиальных клеток. Они, благодаря способности экспрессировать определенные ростовые факторы, обладают уникальным свойством регенерировать отростки нейронов в поврежденной нервной системе [Kocsis et al., 2009].

Из пуповинной крови [Arien-Zakay et al., 2011] и амниотической жидкости [Antonucci et al., 2012] также выделяют мультипотентные СК, способные в культуре при определенных условиях дифференцироваться в клетки, проявляющие свойства НСК. Такие культуры с нейрогенным клеточным потенциалом тоже применяют в эксперименте

для нейротрансплантации. Они не образуют тератом и оказывают нейропротективный эффект при интравенозном и внутримозговом введении. Эффект этот связывают, главным образом, с трофическим воздействием на мозг. Их можно использовать для лечения, например, ишемического повреждения мозга, травм мозга, инфарктов и инсультов [Arienz-Zakay et al., 2011]. Клетки пуповинной крови в экспериментальных моделях применяют также для лечения латерального амиотического склероза, Паркинсонизма и болезни Альцгеймера [Knippenberg et al., 2012; Ende, Chen, 2002; Lee H.J. et al., 2010].

Хорошие терапевтические эффекты дает нейротрансплантация генномодифицированных НСК из разных источников. Такие НСК получают путем трансфекции в них некоторых вирусов со встроенными фрагментами ДНК, экспрессирующими различные ростовые факторы, ферменты, нейропептиды и т.д. [Mejía-Toiber et al., 2011]. Экспрессия этих веществ в мозге реципиента помогает выживанию и развитию недостающих клеточных элементов. Например, НСК, полученные из костного мозга, со встроенным геном фермента тирозингидроксилазы, при трансплантации в мозг животных с экспериментальной болезнью Паркинсона способствовали росту дофаминергических нейронов и предохраняли их от повреждения, что вело к улучшению поведенческих эффектов [Zou et al., 2010].

Индуцированные стволовые клетки из соматических клеток взрослых доноров

В последние годы было сделано революционное открытие в области стволовых клеток, авторы которого, Синъя Яманака и Джон Гердон, стали Нобелевскими лауреатами 2012 года. Соматические клетки (например, из кожи) с помощью четырех транскрипционных факторов (Oct4, Sox2, Klf4 и c-Myc) научились перепрограммировать (индуцировать) в плюрипотентные клетки, подобные ЭСК (индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, ИПСК), которые можно культивировать. Такие клетки могут при определенном составе культуральной среды становиться региональными стволовыми клетками, в том числе и НСК. Есть надежда, что индуцированные НСК, полученные репрограммированием собственных соматических клеток реципиента, будут давать лучший терапевтический эффект при их нейротрансплантации, чем клетки с нейрогенным потенциалом из мультипотентных мезенхимальных источников [Chen et al., 2011; Gao et al., 2012; Imamura, Inoue, 2012]. Можно предположить, что этот эффект будет сопоставим с действием на поврежденную ЦНС НСК из эмбрионального мозга. Благодаря этому открытию можно будет полностью отказаться от использования эмбрионального донорского материала, что позволит наконец избежать этических проблем,

сопровождающих нейротрансплантологию во все периоды ее развития. Важно также и то, что метод наращивания ИПСК из соматических клеток людей, больных разными, в том числе и нейродегенеративными, заболеваниями, с последующим превращением их в НСК поможет смоделировать эти заболевания в клеточных культурах. Это позволит в экспериментах *in vitro* искать возможности для лечения таких болезней [Inoue, 2010]. Одна из последних разработок в этой области заключается в том, что после характеристики развития клеток, полученных из плюрипотентных стволовых клеток у больных особей, предлагается репрограммировать эти клетки в ИПСК, в которых не будет болезненного фенотипа, т.е. будут стерты ДНК-метилованные маркеры, связанные с этой болезнью. Дальнейшее программирование таких репрограммированных ИПСК в нормальные соматические клетки позволит использовать их в терапевтических целях [Hewitt, Garlick, 2012]. В настоящее время в Израиле ведется работа по получению индуцированных полипотентных стволовых клеток из кожи и волос людей, больных различными нейродегенеративными болезнями, с целью моделирования этих заболеваний в культуре (клиническое испытание NCT00874783).

Исследования с ИПСК в нейротрансплантологии только начинаются, предстоит огромная работа по подбору адекватных условий для наращивания необходимых пулов клеток при лечении конкретных заболеваний ЦНС. Есть данные о том, что ИПСК обладают эпигенетической памятью об источнике, из которого они произошли [Kim K. et al., 2010]. Например, ИПСК из разных источников (фибробластов, гемопоэтических клеток, миогенных клеток) обладают разными эпигенетическими и транскрипционными свойствами, которые выражены в большей степени в течение начальных пассажей в культуре. В дальнейших пассажах эта разница нивелируется. В связи с наличием эпигенетической памяти у ИПСК большая проблема заключается в том, чтобы получить из ИПСК функционально-активные НСК/прогениторы и клетки узкоспециализированной дифференцировки, например дофаминергические, которые нужны для лечения болезни Паркинсона. Задача преодолеть это препятствие очень актуальна для лечения нейродегенеративных заболеваний генетической природы. Работы по стиранию эпигенетической памяти у ИПСК, в которых предлагаются разные стратегии, активно ведутся (Polo et al., 2010; Martinez-Fernandez et al., 2011). Предложен новый источник ИПСК – клетки из волосяных фолликул. Эти клетки происходят из нервного гребня, клетки которого образуют разнообразные типы нервных клеток, что, по мнению авторов, может быть важно для потенциальной эпигенетической памяти. Из таких клеток получены нейральные прогениторы, развивающиеся нейроны среднего мозга и функционально-активные дофаминергические нейроны, которые могут быть использованы для лечения

широкого спектра нейродегенеративных расстройств. Преимущество клеток волосяных фолликул заключается в том, что их, в отличие от соматических клеток из других тканевых источников, можно получать неинвазивным путем [Petit et al., 2012].

К сожалению, существует опасность, что нейротрансплантация НСК, полученных из ИПСК, так же как и трансплантация НСК из ЭСК, может повлечь за собой опухолевые процессы в мозге, так как не исключено одновременно с НСК попадание в мозг небольшого количества ИПСК. Кроме того, индуцированные НСК не могут самообновляться в культуре [Ring et al., 2012].

Прямое репрограммирование соматических клеток в НСК и функционально-активные нейроны

Буквально в последние два года ученые преодолели и это препятствие! Открыто прямое репрограммирование соматических клеток в НСК и функционально-активные нейроны, минуя стадию плюрипотентности, с помощью специфических для этих линий клеток транскрипционных факторов [Pang et al., 2011; Abdullah et al., 2012]. Так, учеными из США из фибробластов мыши и человека получены плюрипотентные НСК при добавлении в культуральную среду лишь одного фактора – Sox2. Такие НСК не отличаются от обычных НСК по морфологии, способности самообновляться и образовывать нейросферы в культуре, экспрессии характерных генов. Клонированные НСК были мультипотентны, так как дифференцировались в несколько типов нейронов, астроциты и олигодендроглиocyты. Имплантированные НСК выживали и интегрировались с мозгом мыши [Ring et al., 2012]. Исследователи из Германии тоже получали из фибробластов мыши НСК с помощью Sox2, Klf4 и c-Myc, но с ограничением активности Oct4 на ранней стадии репрограммирования. При этом возникали нейросфероподобные колонии, которые переживали 50 пассажей [Thier et al., 2012]. Другие немецкие исследователи для той же цели использовали следующие факторы: Brn4/Pou3f4, Sox2, Klf4, c-Myc и E47/Tcf3 [Han et al., 2012]. Кроме того, в Италии человеческие астроциты репрограммировали с помощью факторов OCT4, SOX2, и NANOG в НСК/прогениторы с последующим формированием нейронов и глиальных клеток [Corti et al., 2012]. А ученые из США репрограммировали мышинные фибробласты (минуя стадию НСК) в нейральные самообновляющиеся прекурсоры, которые с помощью специально подобранных комбинаций транскрипционных факторов способны дифференцироваться в нейроны и/или астроциты и/или олигодендроглиocyты [Lujan et al., 2012]. Частично репрограммированные фибробласты дают начало НСК, которые генерируют в большей степени глию, чем нейроны. В то же время НСК из ЭСК и ИПСК в

большой степени дифференцируются в нейроны [Matsui et al., 2012]. Более того, с помощью трех факторов (Mash1, Nurr1 и Lmx1) в Италии удалось получить из мышинных и человеческих фибробластов функционирующие дофаминергические нейроны, минуя стадию НСК/прогениторов [Caiazzo et al., 2011]. Авторам из США для репрограммирования фибробластов человека в дофаминергические нейроны понадобилось пять факторов (Mash1, Ngn2, Sox2, Nurr1, and Pitx3) [Liu et al., 2012]. При аллотрансплантации в мозг мышей с моделью болезни Паркинсона дофаминергических нейронов, репрограммированных напрямую из фибробластов, симптомы этого заболевания уменьшались [Kim J. et al., 2011].

Таким образом, наилучшие результаты дают НСК, полученные из фетальной ЦНС, которые можно наращивать в культуральных средах, что, конечно, не снимает полностью этические проблемы, но значительно уменьшает количество первичной нервной ткани для трансплантации. Трансплантация НСК, образованных из ЭСК и плюрипотентных стволовых клеток из других источников и которые можно очень долго наращивать в культуре, что еще в большей степени решает этические проблемы, может привести к образованию опухолей в мозге реципиента. Нароботка ИПСК из соматических клеток полностью решает этические проблемы при нейротрансплантации, но не освобождает от проблемы образования опухолей. Наиболее прогрессивная технология на сегодняшний день – прямое репрограммирование соматических клеток в плюрипотентные нейральные стволовые/прогениторные клетки, дающие начало нейронам и глиальным элементам. Кроме того, появилась возможность репрограммировать соматические клетки напрямую в нейроны узкой специализации, в частности дофаминергические.

Создание микросреды в культуре и в мозге реципиента, улучшающей возможности нейротрансплантации, и способы введения донорского материала.

Кроме работы по поиску адекватного донорского материала, разрабатываются стратегии по созданию определенной микросреды (tissue engineering strategies) в культуре (in vitro) и в мозге реципиента (in vivo) для лучшей выживаемости донорских клеток [Stabenfeldt et al., 2011; Reekmans et al., 2012; Kim H. et al., 2012]. Это – добавление в культуральную среду и/или в мозг реципиента биологически-активных веществ (ростовых факторов, цитокинов); введение в мозг тканево-инженерных конструкций с молекулами, поддерживающими экстраклеточный матрикс (фибронектина, ламинина); введение в мозг фармакологически активных микроносителей; использование биоматериалов для лучшего

встраивания трансплантированных клеток в мозг; совместная трансплантация разных клеток и т.д. [Arien-Zakay et al., 2011; Tate, 2009; Delcroix et al., 2010; Kim H. et al., 2012].

Кроме того, разрабатываются новые иммунодепрессанты и стратегии безопасной для реципиента иммуносупрессии [Masri, 2003, Webber et al., 2011].

Используют разные способы введения донорского материала в мозг. Это внутримозговая нейротрансплантация – в паренхиму разных структур и в желудочки мозга, внутритекальная (в ликвор) трансплантация, внутривенозная и внутриартериальная трансплантация. Внутрисосудистая нейротрансплантация может быть использована при заболеваниях, при которых в значительной степени открыт гематоэнцефалический барьер, – сильные травмы головного и спинного мозга, инсульты и инфаркты мозга [Guzman et al., 2008]. При заболеваниях с недостатком конкретных веществ (болезни Паркинсона, Гентингтона, Альцгеймера) используется преимущественно внутримозговая трансплантация [Dunnett, Rosser, 2011]. Есть экспериментальные работы и по интраназальному введению стволовых клеток в мозг реципиента [Jiang et al., 2011].

Опыт применения нейротрансплантации в клинике для лечения заболеваний ЦНС

Результаты экспериментов по нейротрансплантации фетальных тканей разного генеза в виде фрагментов и суспензий в мозг животных с различными нейродегенеративными расстройствами демонстрировали хорошие терапевтические эффекты. Поэтому уже в конце XX века в мире (Швеция, Российская Федерация, США, Мексика, Куба, Чехия, Великобритания, Франция) насчитывались сотни операций нейротрансплантации на людях, о которых сообщено в научной литературе [Отеллин, 1999, обзор]. Основные результаты были получены в 1990-е годы в значительной степени благодаря усилиям специалистов из разных стран в рамках международных программ [Угрюмов, 2001]. Нейрохирурги использовали этот метод для коррекции структурно-функциональных нарушений при лечении различных неврологических заболеваний (болезни Паркинсона, хорее Гентингтона, эпилепсии, шизофрении, детском церебральном параличе, тяжелой черепно-мозговой травме, травме спинного мозга, гипоксически-ишемической энцефалопатии, генетических заболеваниях мозга и других патологиях ЦНС). Эти результаты обобщены в литературных обзорах [Полежаев и др., 1993; Freed, Rosenstein, 1993; Отеллин, 1999, Угрюмов, 2001, Лосева, 2001].

Подавляющее число операций было выполнено по поводу паркинсонизма с использованием донорской нервной ткани фетусов человека [Угрюмов, 2001; Отеллин, 1999]. Кроме донорской фетальной ткани человека применяли даже фетальную ткань

свиней при трансплантации по поводу болезни Паркинсона и Гентингтона [Fink et al., 2000]. Операции эти, как правило, не вызывали существенных осложнений, часто приводили к улучшению состояния больных, но результаты их были не всегда однозначны. По мнению В.А. Отеллина, результаты использования нейротрансплантации в клинике не так впечатляли, как в экспериментальных работах. Складывалось представление, что потенции метода в клинических условиях реализуются в значительно меньшей мере, чем в эксперименте [Отеллин, 1999]. В те годы метод трансплантации использовался в клинике только в качестве испытаний. Широкого применения он не получил из-за неоднозначности последствий результатов операций нейротрансплантации на людях. Кроме того, использование фетальных тканей для трансплантации всегда вызывало множественные этические и технические проблемы. В частности, для только одной трансплантации по поводу болезни Паркинсона необходимо использовать нервную ткань от трех – пяти эмбрионов человека!

После наступления эры стволовых клеток появилось множество экспериментальных работ по трансплантации НСК/прекурсоров с целью замещения поврежденных клеток и нейропротекции при различных нейродегенеративных заболеваниях, которые так же, как работы по нейротрансплантации тканей эмбрионального происхождения, показывают хорошие терапевтические эффекты [De Feo et al., 2012, и др.]. Практически в каждой работе исследователи приходят к выводу, что трансплантация стволовых клеток может быть потенциально использована в клинике, но только после тщательной экспериментальной проверки. Это связано с тем, что донорский материал, получаемый посредством культивирования стволовых клеток различного происхождения, еще не прошел достаточной проверки в экспериментах по трансплантации в мозг животных с моделями нейродегенеративных расстройств. Кроме того, его использование связано с этическими проблемами и риском возникновения опухолей. Подавляющее большинство экспериментов с НСК разного происхождения дают позитивные результаты при коррекции нейродегенеративных заболеваний у экспериментальных животных, но отмеченные выше их недостатки не позволяют широко внедрять метод в клинику. Хотя последние разработки с прямым репрограммированием соматических клеток в нейральные стволовые/прогениторные клетки или узкоспециализированные нейроны, при использовании которых не возникает этических проблем и не развиваются опухолевые процессы, позволяют надеяться на очень скорое их широкое клиническое применение для нейротрансплантации при лечении нейродегенеративных расстройств.

В период экспериментальных работ со стволовыми клетками, т.е. уже в нынешнем веке, тоже ведутся немногочисленные испытания на людях с применением нейротрансплантации НСК различного происхождения при лечении некоторых нейродегенеративных болезней. Как правило, для такой трансплантации используется человеческий донорский материал. Ниже приводятся данные о клинических испытаниях по использованию нейротрансплантации для лечения нейродегенеративных заболеваний из базы данных PubMed.

Травмы головного и спинного мозга

При черепно-мозговых травмах для трансплантации используют аутологичный клеточный материал, содержащий стволовые клетки, из костного мозга (NCT00254722, NCT01019733), жировой ткани (NCT01649700) и аллогенный материал из пуповинной крови (NCT01451528).

При повреждениях спинного мозга главным образом используют аутологичную трансплантацию в область травмы мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга. Есть работы, где при аналогичных травмах в качестве донорского материала применяют стволовые клетки из жировой ткани (NCT01624779), обкладочные клетки из обонятельного эпителия (NCT01231893) или стволовые клетки пуповинной крови (NCT01471613).

Болезнь Паркинсона

При лечении болезни Паркинсона используют аутологичную трансплантацию мультипотентных стволовых клеток из костного мозга в стриатум (NCT00976430). Введение таких клеток больным Паркинсонизмом осуществляют и внутривенно (NCT01446614). Есть работа, в которой для лечения болезни Паркинсона испытывают внутримозговую трансплантацию фетальных клеток свиньи (NCT00226460).

Болезнь Альцгеймера

В единственном испытании при болезни Альцгеймера используют внутривенное введение аллогенных мезенхимальных стволовых клеток из пуповинной крови (NCT01547689).

Инсульты и инфаркты мозга

При инсультах мозга используют главным образом аутологичную нейротрансплантацию стволовых клеток из костного мозга. Материал вводят или в

перифокальную зону (NCT01714167), или в вены (NCT00254722, NCT00875654, NCT01716481,) и артерии (NCT00473057, NCT01518231, NCT00473057). Также используют внутривенозную (NCT01389453) или внутримозговую (в перифокальную зону инфаркта) (NCT01673932) трансплантацию клеток из пуповинной крови. Есть испытание, где вводят культуру обкладочных клеток обонятельного эпителия в перифокальную зону (NCT01327768).

Многие из этих работ выполняются в Китае. Следует отметить, что в Китае были выполнены масштабные (на 1255 людях) испытания нейротрансплантации обкладочных клеток обонятельного эпителия при лечении разных нейродегенеративных расстройств. По результатам этих испытаний авторы рекомендуют использовать этот источник для лечения хронических спинно-мозговых травм, церебрального паралича, латерального амиотрофического склероза и инсульта [Huang et al., 2009].

Постгипоксические расстройства

Проводится одно испытание на детях с гипоксией и ишемией мозга, которым внутри ликвора вводят аутологичные гемопоэтические стволовые клетки (NCT01019733).

Эпилепсия

Имеется единственное клиническое испытание внутриартериальной трансплантации аутологичных стволовых клеток из костного мозга больным с темпоральной лобной эпилепсией (NCT00916266)

Другие заболевания (из базы данных PubMed)

Есть испытания, связанные с лечением латерального амиотрофического склероза, заболевания, при котором поражаются двигательные нейроны во всей нервной системе, в результате чего происходит параличи с последующей атрофией мышц. Для нейротрансплантации используют НСК из спинного мозга, мезенхимальные мультипотентные стромальные клетки из костного мозга, в том числе и генно-модифицированные, мезенхимальные стволовые клетки из пуповинной крови.

Некоторые испытания посвящены нейротрансплантации при рассеянном склерозе, заболевании, при котором разрушаются миелиновые оболочки. В этом случае также используют гемопоэтические и мезенхимальные клетки из костного мозга.

Есть испытания, в которых нейротрансплантацию используют при ряде генетических расстройств, приводящих к нейродегенеративным процессам. В этих

случаях преимущественно используют аутологичную трансплантацию стволовых клеток из костного мозга и аллогенную трансплантацию клеток из пуповинной крови.

Таким образом, как показывает анализ клинических испытаний при лечении нейродегенеративных расстройств в настоящее время, в качестве донорского материала главным образом используют либо аутологичные источники стволовых клеток (костный мозг, жировую ткань, обонятельный эпителий), либо аллогенную пуповинную кровь. При многих заболеваниях используют внутрисосудистую трансплантацию стволовых клеток. То есть в этих испытаниях практически не применяют клеточный материал, нейротрансплантация которого приводит к этическим проблемам и риску развития опухолей. Кроме того, часто используют малоинвазивный интравенозный или интраартериальный способ доставки клеток к месту повреждения мозга. Такой осторожный подход к клиническому использованию стволовых клеток для лечения нейродегенеративных расстройств на современном этапе обоснован, поскольку экспериментальные работы в этом направлении еще активно ведутся, и свидетельствует о высокой ответственности ученых и врачей.

Перспективы нейротрансплантации в нейроинженерных подходах для увеличения продления жизни мозга

В мире предпринимались попытки введения в организм гомогенатов эмбриональных тканей и эмбриональных стволовых клеток и с целью омоложения. Люди, которым проводили такую терапию, как правило, вели активный образ жизни и доживали до индивидуального преклонного (90 и более лет) возраста. Однако они в результате все равно умирали от тех или иных болезней, свойственных старости [Чернилевский, 2008]. К ним причисляют и ряд нейродегенеративных расстройств – болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, инфаркты и инсульты мозга. Именно профилактикой и лечением этих заболеваний с помощью НСК должна заниматься нейротрансплантология в будущем для продления активного долголетия. Однако терапия стволовыми клетками для достижения максимального индивидуального возраста тоже может иметь место, но получать стволовые клетки следует не из эмбрионов человека, а из соматических тканей, что позволяют уже ныне разработанные технологии.

Из литературных и собственных данных следует, что при широком применении нейротрансплантации в клинике в будущем будет важно использовать адекватный донорский материал, применение которого лишено серьезных недостатков (опасности возникновения опухолей, этических проблем и эпигенетической памяти), и наименее болезненные методы его введения в мозг людей. Исходя из этого представляются

наиболее перспективными следующие направления и нейроинженерные подходы в нейротрансплантологии будущего.

- 1) Моделирование широкого спектра заболеваний ЦНС с помощью ИПСК из соматических клеток от больных людей, разработка оптимальных способов лекарственного лечения и/или клеточной терапии индивидуально для каждого больного.
- 2) После фенотипической характеристики НСК и/или зрелых клеток мозга, полученных из ИПСК у больных людей, репрограммирование этих клеток в ИПСК, в которых не будет болезненного фенотипа, т.е. будет стерта эпигенетическая память. Дальнейшее программирование таких репрограммированных ИПСК в нормальные соматические клетки и использование их для лечения тех или иных болезней.
- 3) Нейротрансплантация нейральных стволовых/прогениторных клеток или узкоспециализированных нервных и/или глиальных клеток, полученных прямым репрограммированием из соматических клеток (кожи, волос), для лечения различных нейродегенеративных заболеваний. Такая трансплантация может оказывать на мозг как нейротрофические эффекты, так и выполнять функцию заместительной клеточной терапии при потере нейрональных и глиальных элементов.
- 4) Развитие технологии производства генно-модифицированных НСК/прекурсоров (путем трансфекции в них генов необходимых веществ с помощью вирусных частиц) из соматических клеток с целью доставки к местам нейродегенерации определенных лекарственных средств белкового происхождения – ростовых факторов, ферментов, цитокинов и т.д.
- 5) Использование стволовых клеток из аллогенных соматических тканей от здоровых молодых людей для лечения генетических или связанных с недостатком определенных физиологически-активных веществ (например, нейромедиаторов) заболеваний. Такой подход может быть использован потому, что, видимо, все клетки организма, пораженного тем или иным генетическим или связанным с дефицитом определенных физиологически-активных веществ (например, нейромедиаторов) заболеванием, имеют характерные для этого заболевания фенотип. Трансплантация аутологических стволовых клеток от больных такими болезнями может привести к формированию зрелых клеток с таким же болезненным фенотипом.
- 6) Разработка новых безопасных для реципиента иммунодепрессантов и стратегий иммуносупрессии. Аллогенный донорский материал можно обрабатывать антителами к антигенам гистосовместимости для предотвращения его отторжения в мозге реципиента.

- 7) Быстрое наращивание для каждого человека в культуре нейральных стволовых/прогениторных клеток из соматических клеток, взятых в молодом возрасте, для заместительной и нейротрофической терапии при неожиданных травмах и инсультах-инфарктах ЦНС. Хранение пула таких клеток, достаточного для экстренной нейротрансплантации, в банках культур, например в замороженном виде.
- 8) Использование при приобретенных заболеваниях (травмы головного и спинного мозга, инсульты и инфаркты мозга) аутологичного донорского материала – НСК из соматических клеток кожи, крови, волос, слизистой оболочки обонятельной системы, костного мозга и т.д. или аллогенного материала – стволовых клеток из пуповинной крови, амниотической жидкости или плаценты.
- 9) Периодическое введение в период нормального старения в ЦНС нейральных стволовых/прогениторных клеток и/или мезенхимальных стволовых клеток (внутри сосудов и/или ликвора) с целью омоложения. К старости снижается нейрогенез в мозге, поэтому введение новых стволовых/прогениторных клеток в мозг может возместить эту потерю. Их введение одновременно с мезенхимальными стволовыми клетками, богатыми нейротрофическими факторами, может способствовать лучшему сохранению клеток мозга в пожилом возрасте и тем самым затормозить процесс старения. По-видимому, в этом случае нужно производить аллогенную трансплантацию от здоровых молодых реципиентов, поскольку к старости свойства аутологичных стволовых клеток могут быть в значительной мере утрачены. Если стволовые клетки будут культивированы и сохранены с молодости, то лучше всего использовать такой аутологичный материал, наращивая его в культуре.

Таким образом, если будут развиваться эти направления и соблюдаться необходимые условия трансплантации в каждом конкретном случае, то есть надежда, что с помощью нейротрансплантологии будущего удастся улучшить как качество жизни многих людей, так и увеличить ее продолжительность.

Литература

- Акимова И.М., Гурчин Ф.А., Шубин Н.А., Гурчин А.Ф. Жизнеспособность клеток мозга эмбрионов человека до и после криоконсервации при гомотрансплантации // Бюлл. экспер. биол. и мед. 1998. № 26. Прил. 1. С. 86–87.
- Александрова М.А. Биологические основы нейротрансплантации // Онтогенез. 2001. № 32 (2). С. 106–113.
- Виноградова О.С. Развитие нервной ткани млекопитающих при трансплантации в мозг и переднюю камеру глаза: проблемы и перспективы // Онтогенез. 1984. № 15 (3). С. 229–251.
- Виноградова О.С. Проблема трансплантации в центральную нервную систему млекопитающих // Журн. высш. нервн. деят. 1995. № 35 (1). С. 132–138.
- Гилерович Е.Г., Федорова Е.А., Отеллин В.А. Развитие трансплантатов спинного мозга эмбрионов человека в спинном мозге взрослых крыс // Морфология. 1996. № 5. С. 43–46.
- Глис П. Изучение регенерации коры мозга с применением имплантатов // Регенерация центральной нервной системы / Ред. Семенова-Тян-Шанская. М.: Иностранная литература, 1959. С. 75–86.
- Гуляева Н.В., Ермакова И.В., Курбатова М.Б., Лосева Е.В., Луцкекина Е.А., Обидин А.Б., Хоничева Н.М. Свободнорадикальное окисление липидов мозга при повреждении миндаины и трансплантации в поврежденный участок эмбриональной мозговой ткани // Нейрохимия. 1990. № 9 (1). С. 68–74.
- Ермакова И.В. Компенсаторно-восстановительные процессы при внутримозговой трансплантации незрелой нервной ткани: дисс. ... д. биол. н. М., 2001.
- Ермакова И.В., Лосева Е.В., Hodges H., Sinden J. Трансплантация культуры астроцитов уменьшает дегенеративные изменения в поврежденном каиновой кислотой мозге крыс // Бюлл. экспер. биол. и мед. 2005. № 140 (12). С. 627–632.
- Журавлева З.Н. Ультраструктурное исследование пластичности клеточных элементов и межклеточных взаимодействий в трансплантатах нервной ткани: дисс. ... д. биол. н. Пушино, 1999.
- Лосева Е.В. Нейротрансплантация фетальных тканей и компенсаторно-восстановительные процессы в ЦНС реципиентов // Успехи физиол. наук. 2001. № 2 (1). С. 19–37.
- Лосева Е.В., Ермакова И.В., Михеева Т.С. Влияние нейротрансплантата эмбриональной ткани на реактивные процессы при травмах мозга крыс // Изв. АН СССР. Серия биол. 1989. № 4. С. 605–609.
- Лосева Е.В., Ермакова И.В., Холодов Ю.А. Магнитное поле препятствует раннему

- отторжению нейрональных ксенотрансплантатов в мозге крыс // *Нейрофизиология*. 1997. № 6. С. 394–401.
- Лосева Е.В., Подгорный О.В., Полтавцева Р.А., Марей М.В., Логинова Н.А., Курская О.В., Сухих Г.Т., Чайлахян Р.К., Александрова М.А. Эффекты нейротрансплантации культивируемых нейрональных и мезенхимальных стволовых клеток человека на обучение и состояние мозга крыс после гипоксии // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2011. № 97 (2). С. 155–168.
- Максимов А.А. Лимфоцит как общая стволовая клетка различных элементов крови в эмбриональном развитии и постфетальной жизни млекопитающих // *Folia Haematologica*. 1909. № 8. P. 125–134. На рус. яз.: *Cell Ther. Transplant*. 2009, 1:e.000032.02. doi:10.3205/ctt-2008-ru-000032.02.
- Никка Г., Пирот Т. Терапия нейродегенеративных заболеваний: возможности и перспективы // *Медицинский совет*. 2010. № 7–8. Опубликовано на сайте «Ремедиум»; <http://www.stemcells.ru/news-23>.
- Отеллин В.А. Морфологические обоснования применения метода нейротрансплантации в клинике: Обзор // *Вопросы нейрохирургии*. 1999. № 4. С. 32–37.
- Подгорный О.В., Хейфец И.В., Александрова М.А., Лосева Е.В., Ревещин А.В., Полтавцева Р.А., Марей М.В., Корочкин Л.И., Сухих Г.Т. Нормализация поведения крыс после гипоксии нейрональными стволовыми клетками человека // *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2004. № 137 (4). С. 394–398.
- Полежаев Л.В., Александрова М.А. Трансплантация ткани мозга в норме и патологии. М.: Наука, 1986. 152 с.
- Полежаев Л.В., Александрова М.А., Витвицкий В.Н., Черкасова Л.В. и др. Трансплантация ткани мозга в биологии и медицине. М.: Наука, 1993. 239 с.
- Пучков В.Ф., Отеллин В.А., Смирнов Е.Б. Васкуляризация трансплантатов неокортекса эмбрионов человека в передней камере глаза крысы в условиях иммуносупрессии циклоспорином А // *Морфология*. 1996. № 5. С. 15–19.
- Сухинич К.К., Подгорный О.В., Александрова М.А. Иммуногистохимический анализ развития суспензионных и тканевых нейротрансплантатов // *Изв. РАН. Сер. биол.* 2011. № 6. С. 659–669.
- Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее // *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 1998. № 126 (1). С. 3–13.
- Сухих Г.Т., Малайцев В.В. Нейрональная стволовая клетка: биология и перспективы нейротрансплантации // *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2001. № 131 (3). С. 244–255.

- Угрюмов М.В. Экспериментальная и клиническая нейротрансплантация – современное состояние и перспективы // Наука долголетия. 2001. № 1. В формате *.pdf (размер – 882 Kb)
- Чернилевский В.Е. Роль стволовых клеток в самообновлении организмов и возможности продления жизни // Докл. МОИП. Секция геронтологии. № 41. С. 82–95. М., 2008.
- Abdullah A.I., Pollock A., Sun T. The path from skin to brain: generation of functional neurons from fibroblasts // *Mol Neurobiol.* 2012. № 45 (3). P. 586–595.
- Amoh Y., Katsuoka K., Hoffman R.M. The advantages of hair follicle pluripotent stem cells over embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells for regenerative medicine // *J. Dermatol. Sci.* 2010. № 60 (3). P. 131–137.
- Antonucci I., Pantalone A., Tete S., Salini V., Borlongan C.V., Hess D., Stuppia L. Amniotic fluid stem cells: a promising therapeutic resource for cell-based regenerative therapy // *Curr. Pharm. Des.* 2012. № 18 (13). P. 1846–1863.
- Arien-Zakay H., Lecht S., Nagler A., Lazarovici P. Neuroprotection by human umbilical cord blood-derived progenitors in ischemic brain injuries // *Arch. Ital. Biol.* 2011. № 149 (2). P. 233–245.
- Azmitia E., Björklund A. (Ed.). *Cell and tissue transplantation into the adult brain.* NY, US. 1987; xvi, 813 pp.
- Ben-Hur T. Cell therapy for multiple sclerosis // *Neurotherapeutics.* 2011. № 8 (4). P. 625–642.
- Björklund A., Stenevi U. Intracerebral neural implants: neuronal replacement and reconstruction of damaged circuitries // *Annu. Rev. Neurosci.* 1984; 7: 279–308.
- Bradbury E.J., Kershaw T.R., Marchbanks R.M., Sinden J.D. Astrocyte transplants alleviate lesion induced memory deficits independently of cholinergic recovery // *Neuroscience.* 1995. № 65 (4). P. 955–972.
- Bragin A.G., Stafekhina V.S. Participation of graft and host brain dendrites in the establishment of interconnections // *Progress in Brain Research / S.B. Dunnet, S.-J. Richards (Eds.).* 1990. № 82 (Ch. 31). P. 277–286.
- Bray G.M. Neural transplantation // *Current Opinion in Neurology and Neurosurgery.* 1990. № 3 (6). P. 926–933.
- Caiazzo M., Dell'Anno M.T., Dvoretzkova E., Lazarevic D., Taverna S., Leo D., Sotnikova T.D., Menegon A., Roncaglia P., Colciago G., Russo G., Carninci P., Pezzoli G., Gainetdinov R.R., Gustincich S., Dityatev A., Broccoli V. Direct generation of functional dopaminergic neurons from mouse and human fibroblasts // *Nature.* 2011. № 476 (7359). P. 224–227.

- Chen L.W., Kuang F., Wei L.C., Ding Y.X., Yung K.K., Chan Y.S. Potential application of induced pluripotent stem cells in cell replacement therapy for Parkinson's disease // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. 2011. № 10 (4). P. 449–458.
- Correia A.S., Anisimov S.V., Li J.Y., Brundin P. Stem cell-based therapy for Parkinson's disease // *Ann. Med.* 2005. № 37 (7). P. 487–498.
- Corti S., Nizzardo M., Simone C., Falcone M., Donadoni C., Salani S., Rizzo F., Nardini M., Riboldi G., Magri F., Zanetta C., Faravelli I., Bresolin N., Comi G.P. Direct reprogramming of human astrocytes into neural stem cells and neurons // *Exp. Cell Res.* 2012. № 318 (13). P. 1528–1541.
- Cossetti C., Alfaro-Cervello C., Donegà M., Tyzack G., Pluchino S. New perspectives of tissue remodelling with neural stem and progenitor cell-based therapies // *Cell Tissue Res.* 2012. № 349 (1). P. 321–329.
- De Feo D., Merlini A., Laterza C., Martino G. Neural stem cell transplantation in central nervous system disorders: from cell replacement to neuroprotection // *Curr. Opin. Neurol.* 2012. № 25 (3). P. 322–333.
- Delcroix G.J., Schiller P.C., Benoit J.P., Montero-Menei C.N. Adult cell therapy for brain neuronal damages and the role of tissue engineering // *Biomaterials*. 2010. № 31 (8). P. 2105–2120.
- Drucker-Colin R., Verdugo-Diaz L., Mendez M., Carrillo-Ruiz J., Morgado-Valle C., Hernandez-Cruz A., Corkidi G. Comparison between low frequency magnetic field stimulation and nerve growth factor treatment of cultured chromaffin cells, on neurite growth, noradrenaline release, excitable properties, and grafting in nigrostriatal lesioned rats // *Mol. Cell Neurosci.* 1994. № 5 (6). P. 485–498.
- Dunnett S.B., Rosser A.E. Clinical translation of cell transplantation in the brain // *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2011. № 16 (6). P. 632–639.
- Emmett C.J., Jaques-Berg W., Seeley P.J. Microtransplantation of neural cells into adult rat brain // *Neuroscience*. 1990. № 38 (1). P. 213–222.
- Ende N., Chen R. Parkinson's disease mice and human umbilical cord blood // *J. Med.* 2002. № 33 (1–4). P. 173–180.
- Feng Z., Gao F. Stem cell challenges in the treatment of neurodegenerative disease // *CNS Neurosci. Ther.* 2012. № 18 (2). P. 142–148.
- Fink J.S., Schumacher J.M., Ellias S.L., Palmer E.P., Saint-Hilaire M., Shannon K., Penn R., Starr P., VanHorne C., Kott H.S., Dempsey P.K., Fischman A.J., Raineri R., Manhart C., Dinsmore J., Isacson O. Porcine xenografts in Parkinson's disease and Huntington's disease patients: preliminary results // *Cell Transplant.* 2000. № 9 (2). P. 273–278.

- Finsen B.R., Pedersen E.B., Sorensen T., Hokland M., Zimmer J. Immune reactions against intercerebral murine xenografts of fetal hippocampal tissue and cultured cortical astrocytes in the adult rat // *Prog. Brain Res.* 1990. № 82. P. 111–128.
- Finsen B. Neuro-glial-immune interreactions. An experimental neural transplant and lesion study // *Dan. Med. Bull.* 1995. № 42 (4). P. 323–341.
- Freed W.J., Rosenstein J.M. Neural transplantation: a report on the IV International Symposium // *J. Neural Transplant Plast.* 1993. № 4 (2). P. 61–96.
- Galvin K.A., Jones D.G. Adult human neural stem cells for cell-replacement therapies in the central nervous system // *Med. J.* 2002. № 177 (6). P. 316–318.
- Gao A., Peng Y., Deng Y., Qing H. Potential therapeutic applications of differentiated induced pluripotent stem cells (iPSCs) in the treatment of neurodegenerative diseases // *Neuroscience.* 2012. № 228. P. 47–59.
- Grisolía J.S. CNS stem cell transplantation: clinical and ethical perspectives // *Brain Res. Bull.* 2002. № 57 (6). P. 823–826.
- Guzman R., Choi R., Gera A., De Los Angeles A., Andres R.H., Steinberg G.K. Intravascular cell replacement therapy for stroke // *Neurosurg. Focus.* 2008. № 24 (3–4). P. E15.
- Hagell P., Brundin P. Cell survival and clinical outcome following intrastriatal transplantation in Parkinson disease // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001. № 60 (8). P. 741–752.
- Han D.W., Tapia N., Hermann A., Hemmer K., Höing S., Araúzo-Bravo M.J., Zaehres H., Wu G., Frank S., Moritz S., Greber B., Yang J.H., Lee H.T., Schwamborn J.C., Storch A., Schöler H.R. Direct reprogramming of fibroblasts into neural stem cells by defined factors // *Cell Stem Cell.* 2012. № 10 (4). P. 465–472.
- Herman J.-P., Arous N.D. Dopaminergic neural grafts after fifteen years: results and perspectives // *Progress in Neurobiology.* 1994. № 44. P. 1–35.
- Hewitt K.J., Garlick J.A. Cellular reprogramming to reset epigenetic signatures // *Mol. Aspects Med.* 2012. Sep 5. pii: S0098-2997(12)00114-8. doi: 10.1016/j.mam.2012.08.002. [Epub ahead of print].
- Honmou O., Onodera R., Sasaki M., Waxman S.G., Kocsis J.D. Mesenchymal stem cells: therapeutic outlook for stroke // *Trends Mol. Med.* 2012. № 18 (5). P. 292–297.
- Huang H., Chen L., Xi H., Wang Q., Zhang J., Liu Y., Zhang F. Olfactory ensheathing cells transplantation for central nervous system diseases in 1,255 patients // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2009. № 23 (1). P. 14–20.
- Imamura K., Inoue H. Research on neurodegenerative diseases using induced pluripotent stem cells // *Psychogeriatrics.* 2012. № 12 (2). P. 115–119.

- Inoue H. Neurodegenerative disease-specific induced pluripotent stem cell research // *Exp. Cell Res.* 2010. № 316 (16). P. 2560–2564.
- Jain K.K. Cell therapy for CNS trauma // *Mol. Biotechnol.* 2009. № 42 (3). P. 367–376.
- Jiang Y., Zhu J., Xu G., Liu X. Intranasal delivery of stem cells to the brain. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2011. № 8 (5). P. 623–632.
- Kim H., Cooke M.J., Shoichet M.S. Creating permissive microenvironments for stem cell transplantation into the central nervous system // *Trends Biotechnol.* 2012. № 30 (1). P. 55–63.
- Kim J., Su S.C., Wang H., Cheng A.W., Cassady J.P., Lodato M.A., Lengner C.J., Chung C.Y., Dawlaty M.M., Tsai L.H., Jaenisch R. Functional integration of dopaminergic neurons directly converted from mouse fibroblasts // *Cell Stem Cell.* 2011. № 9 (5). P. 413–419.
- Kim K., Doi A., Wen B., Ng K., Zhao R., Cahan P., Kim J., Aryee M.J., Ji H., Ehrlich L.I., Yabuuchi A., Takeuchi A., Cunniff K.C., Hongguang H., McKinney-Freeman S., Naveiras O., Yoon T.J., Irizarry R.A., Jung N., Seita J., Hanna J., Murakami P., Jaenisch R., Weissleder R., Orkin S.H., Weissman I.L., Feinberg A.P., Daley G.Q. Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells // *Nature.* 2010. № 467 (7313). P. 285–290.
- Knippenberg S., Thau N., Schwabe K., Dengler R., Schambach A., Hass R., Petri S. Intraspinal injection of human umbilical cord blood-derived cells is neuroprotective in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis // *Neurodegener. Dis.* 2012. № 9 (3). P. 107–120.
- Kocsis J.D., Lankford K.L., Sasaki M., Radtke C. Unique in vivo properties of olfactory ensheathing cells that may contribute to neural repair and protection following spinal cord injury // *Neurosci. Lett.* 2009. № 456 (3). P. 137–142.
- Kooreman N.G., Wu J.C. Tumorigenicity of pluripotent stem cells: biological insights from molecular imaging // *J. R. Soc. Interface.* 2010. № 7 Suppl 6. P. S753–S763.
- Krüger S., Sievers J., Hansen C., Sadler M., Berry M. Three morphologically distinct types of interface develop between adult host and fetal brain transplants: implications for scar formation in the adult central nervous system // *J. Comp. Neurol.* 1986. № 249 (1). P. 103–116.
- Lawrence J.M., Morris R.J., Wilson D.J., Raisman G. Mechanisms of allograft rejection in the rat brain // *Neuroscience.* 1990. № 37 (2). P. 431–462.
- Lee H.J., Lee J.K., Lee H., Shin J.W., Carter J.E., Sakamoto T., Jin H.K., Bae J.S. The therapeutic potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in Alzheimer's disease // *Neurosci. Lett.* 2010. № 481 (1). P. 30–35.

- Lee S.W., Clemenson G.D., Gage F.H. New neurons in an aged brain // *Behav. Brain Res.* 2012. № 227 (2). P. 497–507.
- Lepski G., Jannes C.E., Wessolleck J., Kobayashi E., Nikkhah G. Equivalent neurogenic potential of wild-type and GFP-labeled fetal-derived neural progenitor cells before and after transplantation into the rodent hippocampus. *Transplantation.* 2011. № 91 (4). P. 390–397.
- Lindvall O., Kokaia Z., Martinez-Serrano A. Stem cell therapy for human neurodegenerative disorders-how to make it work // *Nat. Med.* 2004. 10. Jul. Suppl: S42–S50.
- Lindvall O., Winder H., Rehnström S., Brundin P., Odin P., Gustavii B., Frackowiak R., Leenders K.L., Sawle G., Rothwell J.C., Bjorklund A., Marsden S.D. Transplantation of fetal dopamine neurons in Parkinson's disease: one-year clinical and neurophysiological observations in two patients with putaminal implants // *Ann. Neurol.* 1992. № 31 (2). P. 155–165.
- Liu X., Li F., Stubblefield E.A., Blanchard B., Richards T.L., Larson G.A., He Y., Huang Q., Tan A.C., Zhang D., Benke T.A., Sladek J.R., Zahniser N.R., Li C.Y. Direct reprogramming of human fibroblasts into dopaminergic neuron-like cells // *Cell Res.* 2012. № 22 (2). P. 321–332.
- Lujan E., Chanda S., Ahlenius H., Südhof T.C., Wernig M. Direct conversion of mouse fibroblasts to self-renewing, tripotent neural precursor cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. № 109 (7). P. 2527–2532.
- Lund R.D., Banerjee R. Immunological considerations in neural transplantation // *Neural Transplantation: A Practical Approach* / S.B. Dunnett, A. Björklund (Ed.). Oxford: Oxford Univ. Press. 1992. Ch. 9. P. 161–176.
- Marion D.W., Pollock I.F., Lund R.D. Patterns of immune rejection of mouse neocortex transplanted into neonatal rat brain, and effects of host immunosuppression // *Brain Res.* 1990. № 519 (1–2). P. 133–143.
- Marshall C.T., Lu C., Winstead W., Zhang X., Xiao M., Harding G., Klueber K.M., Roisen F.J. The therapeutic potential of human olfactory-derived stem cells // *Histol. Histopathol.* 2006. № 21 (6). P. 633–643.
- Martinez-Fernandez A., Nelson T.J., Terzic A. Nuclear reprogramming strategy modulates differentiation potential of induced pluripotent stem cells // *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2011. № 4 (2). P. 131–137.
- Martino G., Pluchino S. The therapeutic potential of neural stem cells // *Nat. Rev. Neurosci.* 2006. № 7 (5). P. 395–406.

- Masri M.A. The mosaic of immunosuppressive drugs // *Mol. Immunol.* 2003. № 39 (17–18). P. 1073–1077.
- Matsui T., Takano M., Yoshida K., Ono S., Fujisaki C., Matsuzaki Y., Toyama Y., Nakamura M., Okano H., Akamatsu W. Neural stem cells directly differentiated from partially reprogrammed fibroblasts rapidly acquire gliogenic competency. *Stem Cells.* 2012. № 30 (6). P. 1109–1119.
- Mejía-Toiber J., Castillo C.G., Giordano M. Strategies for the development of cell lines for ex vivo gene therapy in the central nervous system // *Cell Transplant.* 2011. № 20 (7). P. 983–1001.
- Milyushina L.A., Verdiev B.I., Kuznetsova A.V., Aleksandrova M.A. Expression of multipotent and retinal markers in pigment epithelium of adult human in vitro // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012. № 153 (1). P. 157–162.
- Mizuno H. The potential for treatment of skeletal muscle disorders with adipose-derived stem cells // *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2010. № 5 (2). P. 133–136.
- Moore K.E., Mills J.F., Thornton M.M. Alternative sources of adult stem cells: a possible solution to the embryonic stem cell debate // *Gend. Med.* 2006. № 3 (3). P. 161–168.
- Muguruma K., Sasai Y. In vitro recapitulation of neural development using embryonic stem cells: from neurogenesis to histogenesis // *Dev. Growth Differ.* 2012. № 54 (3). P. 349–357.
- Pakzaban P., Isacson O. Neural xenotransplantation: reconstruction of neuronal circuitry across species barriers // *Neuroscience.* 1994. № 62 (3). P. 989–1001.
- Pang Z.P., Yang N., Vierbuchen T., Ostermeier A., Fuentes D.R., Yang T.Q., Citri A., Sebastiano V., Marro S., Südhof T.C., Wernig M. Induction of human neuronal cells by defined transcription factors // *Nature.* 2011. № 476 (7359). P. 220–223.
- Paspala S.A., Murthy T.V., Mahaboob V.S., Habeeb M.A. Pluripotent stem cells – a review of the current status in neural regeneration // *Neurol. India.* 2011. № 59 (4). P. 558–565.
- Petit I., Kesner N.S., Karry R., Robicsek O., Aberdam E., Müller F.J., Aberdam D., Ben-Shachar D. Induced pluripotent stem cells from hair follicles as a cellular model for neurodevelopmental disorders // *Stem Cell Res.* 2012. № 8 (1). P. 134–140.
- Polo J.M., Liu S., Figueroa M.E., Kulalert W., Eminli S., Tan K.Y., Apostolou E., Stadtfeld M., Li Y., Shioda T., Natesan S., Wagers A.J., Melnick A., Evans T., Hochedlinger K. Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2010. № 28 (8). P. 848–855.

- Reekmans K., Praet J., Daans J., Reumers V., Pauwels P., Van der Linden A., Berneman Z.N., Ponsaerts P. Current challenges for the advancement of neural stem cell biology and transplantation research // *Stem Cell Rev.* 2012. № 8 (1). P. 262–278.
- Rietze R.L., Reynolds B.A. Neural stem cell isolation and characterization // *Methods Enzymol.* 2006. № 419. P. 3–23.
- Ring K.L., Tong L.M., Balestra M.E., Javier R., Andrews-Zwilling Y., Li G., Walker D., Zhang W.R., Kreitzer A.C., Huang Y. Direct reprogramming of mouse and human fibroblasts into multipotent neural stem cells with a single factor // *Cell Stem Cell.* 2012. № 11 (1). P. 100–109.
- Rochkind S., Ouaknine G.E. New trend in neuroscience: Low-power laser effect on peripheral and central nervous system (basic science, preclinical and clinical studies) // *Neurological Research.* 1992. № 14 (1). P. 2–11.
- Rosser A.E., Zietlow R., Dunnett S.B. Stem cell transplantation for neurodegenerative diseases // *Curr. Opin. Neurol.* 2007. № 20 (6). P. 688–692.
- Ruff C.A., Fehlings M.G. Neural stem cells in regenerative medicine: bridging the gap // *Panminerva Med.* 2010. № 52 (2). P. 125–147.
- Saburina I.N. Embryonic nervous tissue transplantation accelerates restoration of hypoxia-damaged blood-brain barrier in rats // *J. Hirnforsch.* 1989. № 30 (6). P. 737–745.
- Schulz M.K., Sorensen J.C., Tillotson G.L., Castro A.J., Zimmer J. The effect of fetal neocortical transplants on lesion-induced cerebral cortex plasticity // *Cell Transplant.* 1996. № 5 (2). P. 279–286.
- Sensebé L., Bourin P. Mesenchymal stem cells for therapeutic purposes // *Transplantation.* 2009. № 87 (9 Suppl). P. S49–S53.
- Shi X., Kang Y., Hu Q., Chen C., Yang L., Wang K., Chen L., Huang H., Zhou C. A long-term observation of olfactory ensheathing cells transplantation to repair white matter and functional recovery in a focal ischemia model in rat // *Brain Res.* 2010. № 1317. P. 257–267.
- Shruster A., Melamed E., Offen D. Neurogenesis in the aged and neurodegenerative brain // *Apoptosis.* 2010. № 15 (11). P. 1415–1421.
- Shyu W.C., Liu D.D., Lin S.Z., Li W.W., Su C.Y., Chang Y.C., Wang H.J., Wang H.W., Tsai C.H., Li H. Implantation of olfactory ensheathing cells promotes neuroplasticity in murine models of stroke // *J. Clin. Invest.* 2008. № 118 (7). P. 2482–2495.
- Sprick U., Hasenohrl R.U., Krauth J., Klapdor K., Huston J.P. Effects of chronic substance P treatment and intracranial fetal grafts on learning after hippocampal kainic acid lesions // *Peptides.* 1996. № 17 (2). P. 275–285.

- Srivastava A.S., Malhotra R., Sharp J., Berggren T. Potentials of ES cell therapy in neurodegenerative diseases // *Curr. Pharm. Des.* 2008. № 14 (36). P. 3873–3879.
- Stabenfeldt S.E., Irons H.R., Laplaca M.C. Stem cells and bioactive scaffolds as a treatment for traumatic brain injury // *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2011. № 6 (3). P. 208–220.
- Su Z., He C. Olfactory ensheathing cells: biology in neural development and regeneration // *Prog. Neurobiol.* 2010. № 92 (4). P. 517–532.
- Sugaya K. Neuroreplacement therapy and stem cell biology under disease conditions // *Cell Mol Life Sci.* 2003. № 60 (9). P. 1891–1902.
- Tate C.C., Shear D.A., Tate M.C., Archer D.R., Stein D.G., LaPlaca M.C. Laminin and fibronectin scaffolds enhance neural stem cell transplantation into the injured brain // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2009. № 3 (3). P. 208–217.
- Taupin P. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system: functionality and potential clinical interest // *Med. Sci. Monit.* 2005. № 11 (7). P. RA247–252.
- Thier M., Wörsdörfer P., Lakes Y.B., Gorris R., Herms S., Opitz T., Seiferling D., Quandel T., Hoffmann P., Nöthen M.M., Brüstle O., Edenhofer F. Direct conversion of fibroblasts into stably expandable neural stem cells // *Cell Stem Cell.* 2012. № 10 (4). P. 473–479.
- Truwit C.L., Denaro C.P., Lake J.R., DeMarco T. MR imaging of reversible cyclosporin A-induced neurotoxicity // *AJNR. Am. J. Neuroradiol.* 1991. № 12 (4). P. 651–659.
- Turner D.A., Kearney W. Scientific and ethical concerns in neural fetal tissue transplantation // *Neurosurgery.* 1993. № 33 (6). P. 1031–1037.
- Tutter A.V., Baltus G.A., Kadam S. Embryonic stem cells: a great hope for a new era of medicine // *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2006. № 9 (2). P. 169–175.
- Victorov I.V., Lyjin A.A. Intracerebral transplantation of cultured glial neuronal aggregates and fetal brain tissue fragments // *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.* 1990. № 56 (1). P. 73–84.
- Webber A., Hirose R., Vincenti F. Novel strategies in immunosuppression: issues in perspective // *Transplantation.* 2011. № 91 (10). P. 1057–1064.
- Winder H., Brundin P. Immunological aspects of grafting in the mammalian central nervous system. A review and speculative synthesis // *Brain Res.* 1988. № 472 (3). P. 287–324.
- Ying C., Hu W., Cheng B., Zheng X., Li S. Neural Differentiation of Rat Adipose-Derived Stem Cells in Vitro // *Cell Mol. Neurobiol.* 2012. May 9. [Epub ahead of print].
- Zeng X., Rao M.S. Human embryonic stem cells: long term stability, absence of senescence and a potential cell source for neural replacement // *Neuroscience.* 2007. № 145 (4). P. 1348–1358.

Zou Z., Jiang X., Zhang W., Zhou Y., Ke Y., Zhang S., Xu R. Efficacy of Tyrosine Hydroxylase gene modified neural stem cells derived from bone marrow on Parkinson's disease – a rat model study // Brain Res. 2010. № 1346. P. 279–286.