

DOI: 10.15690/vramn731

А.Д. Воронова¹, О.В. Степанова², А.В. Чадин², И.В. Решетов³, В.П. Чехонин^{1, 2}

1 Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

2 Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского, Москва, Российская Федерация

3 Университетская клиническая больница № 1 Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

Клеточная терапия при травмах спинного мозга

В обзоре уделяется внимание возможностям и наиболее перспективным направлениям клеточной терапии при травмах спинного мозга. Результаты экспериментальных работ и клинических исследований с использованием различных типов клеток — эмбриональных стволовых, индуцированных плюрипотентных, мезенхимальных стволовых, Шванновских, клеток обонятельной выстилки и др. — при травматических повреждениях спинного мозга во многих случаях продемонстрировали положительный терапевтический эффект с восстановлением сенсорной и моторной функций спинного мозга. Однако отмечено, что использование отдельных клеточных препаратов связано с определенными методическими и этическими проблемами, а применение некоторых типов клеток малоэффективно или приводит к нежелательным побочным эффектам. Наиболее перспективными показали себя клетки обонятельной выстилки, при этом процедура их получения доступна и безопасна для пациентов. Применение клеток обонятельной выстилки достаточно эффективно для восстановления двигательной функции вследствие ремиелинизации и регенерации аксонов после повреждения спинного мозга. Данные клетки являются тканеспецифичными и аутологичными, поскольку могут быть получены от пациента с травмой спинного мозга и после наращивания в культуре и направленной дифференцировки трансплантированы тому же самому пациенту. Такие преимущества клеток обонятельной выстилки открывают широкие возможности их применения в клеточной терапии при травмах спинного мозга.

Ключевые слова: клеточная терапия, травмы спинного мозга, обонятельная выстилка.

(Для цитирования: Воронова А.Д., Степанова О.В., Чадин А.В., Решетов И.В., Чехонин В.П. Клеточная терапия при травмах спинного мозга. Вестник РАМН. 2016;71(6):420–426. doi: 10.15690/vramn731)

Актуальность

Травматические повреждения спинного мозга — актуальная проблема современной нейробиологии и нейрохирургии в связи с постоянным ростом численности пострадавших от таких повреждений центральной нервной системы, высокой летальностью (до 41–85%) и инвалидизацией (80–85%). В большинстве случаев травмы спинного мозга являются результатом прямых механических повреждений, которые приводят как к частичной, так и полной потере подвижности и чувствительности тела [1].

Наиболее распространенными причинами травм спинного мозга являются дорожно-транспортные происшествия (40,4%), падения (27,9%), а также акты насилия (15%) [2]. Травматические повреждения спинного мозга приводят к последствиям, которые оказывают серьезное влияние на качество жизни пациентов: ухудшается не только их физическое, но и психосоциальное состояние.

По эпидемиологическим данным, в 80-х гг. прошлого столетия травмы спинного мозга были распространены в первую очередь среди молодых людей (средний возраст 29 лет), однако за последние три десятилетия значительно

A.D. Voronova¹, O.V. Stepanova², A.V. Chadin², I.V. Reshetov³, V.P. Chekhonin^{1, 2}

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

² The Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russian Federation

³ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

The Cell Therapy in Traumatic Spinal Cord Injury

The opportunities and the most promising ways of using cellular technology in traumatic spinal cord injury are considered in this review. A large number of experimental and clinical studies with the use of different types of cells: embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells, mesenchymal stem cells, Schwann cells, olfactory mucosa cells, and others — was conducted. The use of these types of cells in traumatic spinal cord injury treatment often demonstrated a positive therapeutic effect: the motor and sensory function recovery of the spinal cord. However, some types of cell preparations involve some methodological and ethical problems; some types of cell therapies are ineffective or give rise to side effects. These factors complicate the selection of optimal cell therapy for the traumatic spinal cord injury treatment. The most promising cells seem to be the cells of the olfactory mucosa. Getting the olfactory mucosa is considered to be a feasible and safe procedure for patients. The clinical application of the cells of the olfactory mucosa is effective in motor function recovery due to remyelination and axonal regeneration after spinal cord injury. These cells are tissue-specific and autologous since they can be obtained from a patient with spinal cord injury, and after cultivation, expansion, and directed differentiation they can be transplanted to the same patient. The presented benefits of olfactory mucosa cells open up the possibility for its clinical application in the cell therapy.

Key words: cell therapy, spinal cord injury, olfactory mucosa.

(For citation: Voronova AD, Stepanova OV, Chadin AV, Reshetov IV, Chekhonin VP. The Cell Therapy in Traumatic Spinal Cord Injury. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2016;71(6):420–426. doi: 10.15690/vramn731)

возросла доля взрослого населения в общем числе пациентов с повреждениями структур центральной нервной системы (средний возраст 45 лет). Среди всех возрастных групп наиболее часто травмы спинного мозга получают лица с параличом конечностей, из них пациенты с неполной тетраплегией составляют ~30,1%, с полной параплегией — 25,6%, с полной тетраплегией — 20,4%, с неполной параплегией — 18,5% [3].

Повреждения спинного мозга

Механизмы повреждения

Травмы спинного мозга приводят к его повреждениям, которые можно разделить на первичные и вторичные.

Первичное повреждение происходит непосредственно в момент механического воздействия на спинной мозг. Наиболее распространенные виды травматических повреждений — это контузия спинного мозга непосредственно в момент получения травмы или же продолжительная компрессия спинного мозга вследствие повреждения и смещения позвонков. В результате травмы развивается вторичное повреждение, когда основную роль играют воспалительные реакции, в которых задействованы различные клеточные и молекулярные механизмы.

Во *вторичном повреждении* различают острую фазу (два часа — двое суток), подострую (несколько дней — несколько недель) и хроническую (месяцы — годы) [4]. Острая фаза характеризуется наличием отеков, ишемией, воспалением, кровоизлияниями, продукцией активных форм кислорода и перекисным окислением липидов, демиелинизацией, гибелью большого числа нейронов, в том числе глутаматопосредованной гибелью нервных клеток, ионным дисбалансом, нарушением гематоэнцефалического барьера. Для подострой фазы характерными являются процессы инфильтрации макрофагами, активность микроглии и астроцитов, формирование рубца, а также процессы неоваскуляризации. Во время хронической фазы продолжают формироваться рубец, киста и ее полость. В результате этих патологических процессов происходит гибель большого числа нейронов [5]. Демиелинизация нейронов может приводить к полной и необратимой потере сенсомоторной функции, и эти изменения не поддаются лечению [6]. Кроме того, травмы спинного мозга могут привести к нарушениям дыхания вследствие денервации диафрагмы, функции мочевого пузыря, сердечной деятельности.

Диагностика повреждений

Для того чтобы выбрать правильную тактику лечения, необходимо определить уровень и характер нарушений в позвоночнике, степень и уровень спинномозговых повреждений, наличие сочетанных повреждений. В настоящее время мировым сообществом принята классификация Американской ассоциации спинальной травмы (American Spinal Injury Association / International Medical Society of Paraplegia, ASIA/IMSOP), которая позволяет в баллах определить тяжесть травмы спинного мозга при оценке сенсорной и моторной функции пациента [7, 8]. Для визуализации повреждений спинного мозга на сегодняшний день наиболее часто используют метод рентгенодиагностики, компьютерную и магнитно-резонансную томографию [9, 10]. Рентгенологическое и компьютерное томографическое исследование помогают диагностировать наличие переломов и повреждений позвоночника, однако данные методы не могут обеспечить визуализацию

травм связочного аппарата и очагов повреждения спинного мозга. Магнитно-резонансная томография является методом выбора для визуализации спинного мозга. Данный метод диагностики используется в основном для исключения скрытых травм и идентификации очага повреждения спинного мозга [11].

В последние годы создан целый ряд экспериментальных моделей травм спинного мозга, которые позволяют проводить исследования в области клеточной терапии на животных. Экспериментальные работы по трансплантации клеток в спинной мозг проводят чаще всего на грызунах. Наиболее распространенными моделями травм спинного мозга являются контузионная и компрессионная травмы на уровне шейного и грудного отделов, латеральная или дорсальная гемисекция или полная транссекция. После трансплантации клеток в место повреждения необходимо провести оценку регенерации спинного мозга. Основным инструментом для оценки восстановления моторной и чувствительной функции является 21-балльная шкала открытого поля, разработанная D. Basso, M. Beattie и J. Bresnahan (BBB), которая позволяет изучить динамику восстановления опорно-двигательного аппарата с учетом ранней (BBB-оценка от 0 до 7), промежуточной (8–13) и поздней (14–21) фазы восстановления [12]. Выживаемость трансплантированных клеток, как и регенеративные процессы после повреждения можно изучить и оценить с помощью гистологических методов. В последнее время для оценки регенеративных процессов применяют метод магнитно-резонансной томографии.

Медикаментозное лечение и хирургическое вмешательство не всегда позволяют добиться желаемых результатов, поскольку при травматических повреждениях происходит гибель большого числа функциональных нейронов. В связи с этим перспективным направлением для лечения травм спинного мозга может стать клеточная терапия [13].

Клеточная терапия

Клеточная трансплантация может способствовать регенерации нейронов и посредством секреции нейротрофических факторов на месте повреждения снижать риск нарушений после травмы с целью повышения регенеративного потенциала, а также обеспечивать регенерацию аксонов, замещать утраченные нейроны и нейральные клетки [14]. В течение последних лет как на экспериментальных моделях, так и в клинических испытаниях было изучено влияние различных типов клеток на заживление травм спинного мозга. На экспериментальных моделях травм спинного мозга были изучены терапевтические эффекты введения эмбриональных стволовых (ЭСК), индуцированных плюрипотентных (иПСК), мезенхимальных стволовых (МСК), Шванновских клеток, клеток обонятельной выстилки и др. При создании клеточного препарата важными критериями являются его безопасность и терапевтическая эффективность. Основные побочные эффекты при трансплантации — образование тератом, что связано с неконтролируемой клеточной пролиферацией стволовых клеток [15, 16], и иммунологическая реакция организма на алло- или ксеногенный препарат. Таким образом, наиболее предпочтительными для трансплантации считаются аутологичные клетки. При этом необходимо соблюдать протоколы получения, культивирования, криоконсервации, хранения клеток; проводить окончательное тестирование клеток, особенно в случае их генетической модификации [17].

Эмбриональные стволовые клетки

Эмбриональные стволовые клетки являются плюрипотентными, могут быть получены из внутренней клеточной массы эмбриона на ранних стадиях развития [18]. По сравнению со стволовыми клетками, полученными от взрослого организма, ЭСК способны к дифференцировке в клетки всех трех зародышевых листков и, в конечном счете, могут генерировать все типы клеток организма [19]. Были проведены экспериментальные работы по трансплантации ЭСК в поврежденный спинной мозг мышей и человека и выявлены регенерация аксонов и восстановление моторной функции [5]. Однако применение ЭСК не может быть рекомендовано к широкому клиническому применению по ряду причин. Трансплантация ЭСК угрожает образованием тератом, что связано с неконтролируемой клеточной пролиферацией. Кроме того, трансплантированные ЭСК могут быть отторгнуты взрослым организмом, в связи с чем может потребоваться длительная иммуносупрессивная терапия. Помимо этого, существуют этические и религиозные ограничения, связанные с применением ЭСК [17].

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки — это соматические клетки, которые получают путем генетических модификаций, активирующих экспрессию главных транскрипционных факторов, запускающих переход клетки в мультипотентное состояние, подобное эмбриональным стволовым клеткам. Этот метод был разработан в 2006 г. К. Takahashi и S. Yamanaka на фибробластах мышей с помощью ретровирусной трансфекции 24 транскрипционных факторов. В настоящее время иПСК можно получить из соматических клеток, полученных от различных видов, в том числе мышей, крыс, макаки резус и человека путем индукции всего 4 транскрипционных факторов [20]: SOX2 [(sex-determining region Y)-box2], Klf4 (Kruppel-like factor), Oct3/4 (Octamer-binding transcription factor 3/4) и C-Мyc [21, 22]. Использование иПСК имеет ряд преимуществ по сравнению с эмбриональными стволовыми клетками, так как их получение связано с меньшим количеством этических проблем и меньшим риском иммунологического отторжения, поэтому может быть более предпочтительным в регенеративной медицине [5]. В многочисленных экспериментальных исследованиях с использованием иПСК были получены обнадеживающие результаты по регенерации спинного мозга после повреждения. В результате трансплантации в поврежденный спинной мозг мышей нейральных стволовых/прогениторных клеток (НСПК), полученных из иПСК человека, было обнаружено, что трансплантированные клетки выживают, образуя синапсы с нейронами спинного мозга реципиента, и способствуют регенерации аксонов [23, 24]. В другом исследовании [25] было показано, что трансплантация НСПК, полученных из иПСК человека, в область повреждения спинного мозга мышей способствует восстановлению утраченных функций, что связано с дифференцировкой трансплантированных клеток в нейроны (52%), астроциты (31%) и олигодендроциты (26%). Однако широкое использование иПСК для клеточной терапии в клинической практике пока ограничивается рядом проблем, основной из которых является риск образования тератом в организме. Кроме того, современные методы перепрограммирования дают очень низкий выход иПСК, а для терапии необходимо их большое количество.

Мезенхимальные стволовые клетки

Мезенхимальные стволовые клетки — мультипотентные клетки, способные к самообновлению, — впервые были обнаружены в костном мозге [26, 27]. На сегодняшний день МСК получают также из жировой ткани, амниотической жидкости, плаценты, пуповинной крови, а также из некоторых эмбриональных органов, включая печень и селезенку. МСК считаются перспективными для исследований эффективности терапии травм спинного мозга, поскольку обладают следующими преимуществами: синтезируют ряд цитокинов, которые стимулируют и поддерживают рост нейронов, таких как нейротрофический фактор мозга (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) и фактор роста нервов (Nerve growth factor, NGF), а также фактор роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor, VEGF) — сигнальный белок, вырабатываемый клетками для стимулирования ангиогенеза [28]. Кроме того, в некоторых исследованиях было показано, что трансплантированные МСК способны синтезировать в зоне поражения компоненты внеклеточного матрикса, например ламинин, фибронектин и коллаген, которые способствуют уменьшению полости кисты [29]. В экспериментальных исследованиях по регенерации спинного мозга после повреждения было показано, что их трансплантация приводит к процессу ремиелинизации и может способствовать росту аксонов [30]. Кроме того, наращивание большого количества клеток для трансплантации возможно в относительно короткие сроки: процедура получения МСК и их криоконсервации является достаточно простой, а клетки сохраняют свой регенеративный потенциал после размораживания с минимальными потерями [5]. Несмотря на то, что трансплантация МСК при травмах спинного мозга показала некоторые обнадеживающие результаты в экспериментах на животных, в клинических испытаниях данные клетки оказались неэффективными; кроме того, были зафиксированы некоторые побочные эффекты [31–33], такие как, например, нейропатическая боль. Таким образом, безопасность применения МСК, развитие нежелательных явлений и эффективность терапии должны быть тщательно изучены на экспериментальных моделях перед возможным началом следующих клинических испытаний.

Шванновские клетки

Шванновские клетки являются разновидностью олигодендроглии, осуществляя миелинизацию аксонов в периферической нервной системе. Первая трансплантация Шванновских клеток в спинной мозг крыс была проведена научной группой I.D. Duncan в 1981 г. [34], и с тех пор материал был изучен на различных экспериментальных моделях повреждения спинного мозга. В результате было обнаружено, что Шванновские клетки способствуют ремиелинизации аксонов и создают окружение для регенерации и роста нервных волокон. Однако далеко не во всех работах удалось получить позитивные и обнадеживающие результаты. С использованием Шванновских клеток было проведено несколько клинических испытаний, хотя полученные результаты продемонстрировали безопасность использования данных клеток, никаких значительных улучшений у пациентов не наблюдалось [5].

В результате применения перечисленных типов клеток были получены некоторые положительные результаты, но на данный момент накоплено недостаточно данных о безопасности и эффективности их применения в клинической практике.

Таким образом, на сегодняшний день не существует оптимального клеточного препарата для терапии травм спинного мозга.

Клетки обонятельной выстилки как потенциальный источник клеток в терапии травм спинного мозга

На сегодняшний день еще одним потенциальным источником клеток для клеточной терапии травм спинного мозга является обонятельная выстилка носа. Эти клетки обладают рядом преимуществ и рассматриваются учеными как наиболее перспективные в терапии травматических повреждений спинного мозга. Обонятельная выстилка состоит из обонятельного эпителия и собственной пластинки. Обонятельный эпителий млекопитающих является многоядным и состоит из трех слоев — апикального, промежуточного и базального. В базальном слое содержатся нейральные стволовые/прогениторные клетки, которые представлены горизонтальными и шаровидными клетками. Эти клетки являются мультипотентными предшественниками и способны дифференцироваться во все типы клеток обонятельного эпителия, в том числе в зрелые нейроны, а также в глиальные клетки.

Для проведения экспериментальных исследований по регенерации спинного мозга после повреждения обычно используют нейросферы, полученные из НСПК обонятельного эпителия *in vitro*. Существуют различные протоколы для получения достаточного количества нейросфер [35–37]. Серия экспериментов *in vitro* показала, что клетки, образующие нейросферы, имеют характеристики нейральных прогениторных клеток, они быстро делятся и имеют высокий уровень выживаемости [38–40], способны дифференцироваться в нейрональные или глиальные клеточные линии в зависимости от условий культивирования [41–43]. Кроме того, клетки, образующие нейросферы, продуцируют NGF и BDNF

вне зависимости от пассажа, возраста или пола донора [44]. Было проведено несколько экспериментальных работ по трансплантации нейросфер в поврежденный спинной мозг. После частичной гемисекции в шейном отделе крыс было обнаружено, что клетки выживают, мигрируют и интегрируются в спинной мозг хозяина, защищают аксоны нейронов руброспинального тракта, а также способствуют регенерации аксонов, что приводит к восстановлению функций [44, 45]. В данных экспериментальных работах были получены положительные результаты по применению НСПК обонятельного эпителия в регенерации спинного мозга, однако этих данных недостаточно, чтобы пользоваться ими в клинической практике. Таким образом, необходимы дальнейшие экспериментальные исследования по регенерации спинного мозга с использованием нейральных стволовых/прогениторных клеток.

В собственной пластинке обонятельной выстилки содержатся обкладочные клетки, регенеративный потенциал которых при травмах спинного мозга активно изучается с конца прошлого века [46, 47]. Обкладочные клетки представляют собой высокоспециализированные клетки, которые сходны по своим морфологическим и биохимическим характеристикам со Шванновскими клетками и с астроцитами. Им свойственна экспрессия астроцитарного маркера — кислого глиального фибриллярного белка и олигодендроцитарного — низкоаффинного рецептора фактора роста нервов. Такие особенности обкладочных клеток позволяют им выполнять разнообразные функции: создавать микроокружение для нейронов, способствовать росту аксонов и ремиелинизации нервных волокон [48]. Их способность поддерживать нейрональную регенерацию позволяет рассматривать их в качестве источника для терапии травм спинного мозга.

На данный момент обкладочные клетки обонятельной выстилки были изучены *in vitro* и протестированы *in vivo* на различных экспериментальных моделях травм спинного мозга (табл.).

Таблица. *In vivo* трансплантация обкладочных клеток на различных экспериментальных моделях травмы спинного мозга

Исследование	Модель, крысы	Что вводили	Эффект
[49]	Контузионная травма на уровне С7	Обкладочные клетки крыс	Частичное восстановление моторной функции
[50]	Полная транссекция на уровне Т9	Собственная пластинка крыс (обонятельный участок + респираторный)	Ремиелинизация аксонов
[51]	Полная транссекция на уровне Т10	Целиком обонятельные выстилки крыс	Частичная ремиелинизация аксонов и восстановление моторной функции
[52]	Контузионная травма на уровне Т10	Собственная пластинка крыс (обонятельный участок + респираторный)	Ремиелинизация аксонов
[53]	Контузионная травма на уровне Т10	Обкладочные клетки из собственной пластинки крыс	Ремиелинизация аксонов и формирование рубца
[54]	Гемисекция на уровне Т10	Обкладочные клетки крыс	Восстановление моторных функций передних конечностей
[55]	Латеральная гемисекция на уровне L3	Обкладочные клетки крыс	Аксональная регенерация, ремиелинизация аксонов
[56]	Контузионная травма на уровне Т10	Обкладочные клетки крыс	Ремиелинизация аксонов, улучшение моторной функции
[57]	Дорсолатеральная гемисекция на уровне С4	Обкладочные клетки мышей из собственной пластинки	Ремиелинизация и формирование рубца

В многочисленных экспериментальных работах по трансплантации обкладочных клеток были получены положительные результаты. Было показано, как происходит восстановление моторных функций передних конечностей крыс [56], восстановление сенсорных функций [58]. М. Richter и колл. трансплантировали обкладочные клетки мышцей в поврежденный спинной мозг крыс, в результате чего наблюдали уменьшение площади повреждения, регенерацию аксонов и ремиелинизацию нервных волокон [52]. Однако в некоторых работах по трансплантации обкладочных клеток в спинной мозг были получены противоречивые результаты. Так, J. Collazos-Castro и колл. [49] при трансплантации обкладочных клеток обонятельной выстилки крыс в экспериментальной контузионной травме спинного мозга не наблюдали регенерации нейронов или ремиелинизации нервных волокон, однако они продемонстрировали частичное улучшение моторных функций. Группой X. Zhang было показано, что трансплантация обкладочных клеток из собственной пластинки может косвенно способствовать восстановлению тканей, регенерации аксонов и ремиелинизации нервных волокон и уменьшать полость кисты, образованную в результате повреждения. Однако восстановления моторной функции [53], регенерации нейронов и ремиелинизации аксонов [57] ученые не наблюдали. Возможно, эффективность применения обкладочных клеток зависит от фазы вторичного повреждения спинного мозга (острая, подострая, хроническая) и может быть значительно повышена при совместном применении с другими типами клеток. Используемые методы и продолжительность предварительного культивирования могут также оказать влияние на выживаемость трансплантируемых клеток, их свойства нейропротекции, экспрессию нейротрофических факторов, рост аксонов и ремиелинизацию нервных волокон [53].

Помимо использования обкладочных клеток, отдельно существуют работы, в которых взрослым крысам при травмах спинного мозга трансплантировали либо обонятельную выстилку целиком [59], либо кусочки собственной пластинки [51, 56]. При этом наблюдали положительные эффекты, такие как ремиелинизация нервных волокон и частичное восстановление моторной функции задних конечностей.

Помимо исследований на экспериментальных моделях, было проведено несколько клинических испытаний, которые продемонстрировали, что трансплантация аутологичных обкладочных клеток является безопасной процедурой, применимой для лечения пациентов [60–62]. В фазе I клинических испытаний по ауто трансплантации обкладочных клеток обонятельной выстилки в поврежденный спинной мозг было обнаружено, что у пациентов с хроническими травмами спинного мозга не выявлено каких-либо неблагоприятных медицинских или хирургических осложнений от процедуры, таких как невропатическая боль или неврологическое повреждение [63]. В другом исследовании было продемонстрировано, что происходит улучшение моторной функции у пациентов с повреждением спинного мозга после трансплантации аутологичной ткани обонятельной выстилки целиком (без предварительной ферментационной обработки и культивирования) [62]. F. Huang и колл. [64] сообщили об улучшении показателей как моторной, так и сенсорной функции у пациентов в возрасте от 2 до 64 лет с травмами спинного мозга после трансплантации эмбриональных обкладочных клеток обонятельной выстилки человека [65]. Другими группами ученых [60, 66] были выполнены трансплантации клеток обонятельной выстилки с целью заполнить область поражения. Результаты работы пока-

зали, что у некоторых пациентов происходило частичное восстановление моторной и сенсорной функции, однако наблюдались некоторые побочные эффекты, такие как невропатическая боль.

Хотя на сегодняшний день можно сказать, что полученные обнадеживающие данные по трансплантации обкладочных клеток в спинной мозг, в клинические испытания необходимо включать большее количество пациентов, чтобы можно было подтвердить реализуемость и эффективность терапии.

Не так давно в собственной пластинке обонятельной выстилки были найдены мезенхимальные стволовые клетки. Исследования мезенхимальных стволовых клеток, полученных из собственной пластинки грызунов и человека, показали, что МСК способны генерировать различные типы клеток, в том числе нейроны, обкладочные и другие глиальные клетки как в процессе развития, так и при регенерации обонятельной выстилки [35]. Как известно, МСК, полученные из других источников, активно применяются в исследованиях по регенерации спинного мозга после повреждения. Однако пока нет данных по использованию МСК из собственной пластинки обонятельной выстилки для клеточной терапии травм спинного мозга. Таким образом, обонятельная выстилка содержит сразу несколько типов клеток, которые могут быть применены для создания клеточного препарата: нейральные стволовые/прогениторные клетки, обкладочные и мезенхимальные стволовые клетки. Перспективным направлением их применения может являться совместное введение данных типов клеток в область повреждения.

Заключение

Суммируя вышеизложенное, нейральные стволовые / прогениторные клетки и обкладочные клетки обонятельной выстилки носа могут быть рекомендованы для получения оптимального клеточного препарата при травмах спинного мозга. Эти клетки обладают рядом преимуществ перед другими типами клеток. Получение обонятельной выстилки является процедурой доступной и безопасной: у пациентов не происходит нарушения обоняния благодаря высокой регенерационной способности слизистой оболочки. Применение клеток обонятельной выстилки достаточно эффективно для восстановления двигательной функции вследствие ремиелинизации и регенерации аксонов после повреждения спинного мозга. Данные клетки являются тканеспецифичными и аутологичными, так как они могут быть получены от пациента с травмой спинного мозга и после культивирования и направленной дифференцировки трансплантированы тому же самому пациенту.

Источник финансирования

Настоящая статья публикуется в рамках выполнения государственного задания, утвержденного на 2016 г., от 22.01.2016; тема: «Изучение патогенеза нервных и психических заболеваний в эксперименте и клинике с целью создания инновационных методов диагностики и терапии нервно-психических заболеваний».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yip PK, Malaspina A. Spinal cord trauma and the molecular point of no return. *Mol Neurodegener.* 2012;7:6. doi: 10.1186/1750-1326-7-6.
2. Spinal cord injury facts and figures at a glance. *J Spinal Cord Med.* 2012;35(4):197–198. doi: 10.1179/1079026812Z.00000000063.
3. van Middendorp JJ, Goss B, Urquhart S, et al. Diagnosis and prognosis of traumatic spinal cord injury. *Global Spine J.* 2011;1(1):1–8. doi: 10.1055/s-0031-1296049.
4. Oyinbo CA. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2011;71(2):281–299.
5. Li J, Lepski G. Cell transplantation for spinal cord injury: a systematic review. *Biomed Res Int.* 2013;2013:786475. doi: 10.1155/2013/786475.
6. Tello Velasquez J, Ekberg JAK, St John JA. *Transplantation of olfactory ensheathing cells in spinal cord injury.* In: Zhao LR, Zhang JH, editors. *Cellular therapy for stroke and CNS injuries.* Springer International Publishing; 2014. p. 277–309. doi: 10.1007/978-3-319-11481-1_13.
7. Curt A, Dietz V. Ambulatory capacity in spinal cord injury: significance of somatosensory evoked potentials and ASIA protocol in predicting outcome. *Arch Phys Med Rehabil.* 1997;78(1):39–43. doi: 10.1016/s0003-9993(97)90007-1.
8. van Middendorp JJ, Hosman AJ, Pouw MH, et al. Is determination between complete and incomplete traumatic spinal cord injury clinically relevant? Validation of the ASIA sacral sparing criteria in a prospective cohort of 432 patients. *Spinal Cord.* 2009;47(11):809–816. doi: 10.1038/sc.2009.44.
9. Demaerel P. Magnetic resonance imaging of spinal cord trauma: a pictorial essay. *Neuroradiology.* 2006;48(4):223–232. doi: 10.1007/s00234-005-0039-y.
10. ninds.nih.gov [Internet]. National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS). Spinal Cord Injury: Hope Through Research [updated 2016 Apr 5; cited 2016 Sep 12]. Available from: http://www.ninds.nih.gov/disorders/sci/detail_sci.htm.
11. Bozzo A, Marcoux J, Radhakrishna M, et al. The role of magnetic resonance imaging in the management of acute spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2011;28(8):1401–1411. doi: 10.1089/neu.2009.1236.
12. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma.* 1995;12(1):1–21. doi: 10.1089/neu.1995.12.1.
13. Park DH, Lee JH, Borlongan CV, et al. Transplantation of umbilical cord blood stem cells for treating spinal cord injury. *Stem Cell Rev.* 2011;7(1):181–194. doi: 10.1007/s12015-010-9163-0.
14. Pearce DD, Bunge MB. Designing cell- and gene-based regeneration strategies to repair the injured spinal cord. *J Neurotrauma.* 2006;23(3-4):438–452. doi: 10.1089/neu.2006.23.437.
15. Ray S, Atkuri KR, Deb-Basu D, et al. MYC can induce DNA breaks in vivo and in vitro independent of reactive oxygen species. *Cancer Res.* 2006;66(13):6598–6605. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3115.
16. Shiras A, Chettiar ST, Shepal V, et al. Spontaneous transformation of human adult nontumorigenic stem cells to cancer stem cells is driven by genomic instability in a human model of glioblastoma. *Stem Cells.* 2007;25(6):1478–1489. doi: 10.1634/stemcells.2006-0585.
17. Маккирини П., Кондратьева Е. Особенности этической экспертизы при планировании и проведении клинических исследований в регенеративной медицине // *Гены и клетки.* — 2011. — Т.6. — №4 — С. 111–118. [Makkiarini P, Kondrat'eva E. Osobennosti eticheskoi ekspertizy pri planirovani i provedenii klinicheskikh issledovani v regenerativnoi meditsine. *Genes and cells.* 2011;6(4):111–118. (In Russ).]
18. Blair K, Wray J, Smith A. The liberation of embryonic stem cells. *PLoS Genet.* 2011;7(4):e1002019. doi: 10.1371/journal.pgen.1002019.
19. Puri MC, Nagy A. Concise review: Embryonic stem cells versus induced pluripotent stem cells: the game is on. *Stem Cells.* 2012;30(1):10–14. doi: 10.1002/stem.788.
20. Salewski R, Emrani H, Fehlings MG. *Neural stem/progenitor cells for spinal cord regeneration* [Internet]. In: Wislet-Gendebien S, editor. *Trends in cell signaling pathways in neuronal fate decision.* InTech; 2013. doi: 10.5772/3445 [cited 2016 Sep 12]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/trends-in-cell-signaling-pathways-in-neuronal-fate-decision/neural-stem-progenitor-cells-for-spinal-cord-regeneration>.
21. Nishikawa S, Goldstein RA, Nierras CR. The promise of human induced pluripotent stem cells for research and therapy. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(9):725–729. doi: 10.1038/nrm2466.
22. Park IH, Zhao R, West JA, et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature.* 2008;451(7175):141–146. doi: 10.1038/nature06534.
23. Nori S, Okada Y, Yasuda A, et al. Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(40):16825–16830. doi: 10.1073/pnas.1108077108.
24. Fujimoto Y, Abematsu M, Falk A, et al. Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human induced pluripotent stem cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. *Stem Cells.* 2012;30(6):1163–1173. doi: 10.1002/stem.1083.
25. Kobayashi Y, Okada Y, Itakura G, et al. Pre-evaluated safe human iPSC-derived neural stem cells promote functional recovery after spinal cord injury in common marmoset without tumorigenicity. *PLoS One.* 2012;7(12):e52787. doi: 10.1371/journal.pone.0052787.
26. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science.* 1997;276(5309):71–74. doi: 10.1126/science.276.5309.71.
27. Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol.* 1974;2(2):83–92.
28. Hsieh JY, Wang HW, Chang SJ, et al. Mesenchymal stem cells from human umbilical cord express preferentially secreted factors related to neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis. *PLoS One.* 2013;8(8):e72604. doi: 10.1371/journal.pone.0072604.
29. Wright KT, El Masri W, Osman A, et al. Concise review: Bone marrow for the treatment of spinal cord injury: mechanisms and clinical applications. *Stem Cells.* 2011;29(2):169–178. doi: 10.1002/stem.570.
30. Malgieri A, Kantzari E, Patrizi MP, Gambardella S. Bone marrow and umbilical cord blood human mesenchymal stem cells: state of the art. *Int J Clin Exp Med.* 2010;3(4):248–269.
31. Ichim TE, Solano F, Lara F, et al. Feasibility of combination allogeneic stem cell therapy for spinal cord injury: a case report. *Int Arch Med.* 2010;3:30. doi: 10.1186/1755-7682-3-30.
32. Kishik NA, Gabr H, Hamdy S, et al. Case control series of intrathecal autologous bone marrow mesenchymal stem cell therapy for chronic spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair.* 2010;24(8):702–708. doi: 10.1177/1545968310369801.
33. Bhanot Y, Rao S, Ghosh D, et al. Autologous mesenchymal stem cells in chronic spinal cord injury. *Br J Neurosurg.* 2011;25(4):516–522. doi: 10.3109/02688697.2010.550658.
34. Tetzlaff W, Okon EB, Karimi-Abdolrezaee S, et al. A systematic review of cellular transplantation therapies for spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2011;28(8):1611–1682. doi: 10.1089/neu.2009.1177.
35. Borgmann-Winter K, Willard SL, Sinclair D, et al. Translational potential of olfactory mucosa for the study of neuropsychiatric illness. *Transl Psychiatry.* 2015;5:e527. doi: 10.1038/tp.2014.141.
36. Winstead W, Marshall CT, Lu CL, et al. Endoscopic biopsy of human olfactory epithelium as a source of progenitor cells. *Am J Rhinol.* 2005;19(1):83–90.
37. Girard SD, Deveze A, Nivet E, et al. Isolating nasal olfactory stem cells from rodents or humans. *J Vis Exp.* 2011;(54):e2762. doi: 10.3791/2762.
38. Zhang X, Klueber KM, Guo Z, et al. Adult human olfactory neural progenitors cultured in defined medium. *Exp Neurol.* 2004;186(2):112–123. doi: 10.1016/j.expneurol.2003.10.022.
39. Marshall CT, Guo Z, Lu C, et al. Human adult olfactory neuroepithelial derived progenitors retain telomerase activity and lack apoptotic activity. *Brain Res.* 2005;1045(1-2):45–56. doi: 10.1016/j.brainres.2005.03.041.
40. Othman M, Lu C, Klueber K, et al. Clonal analysis of adult human olfactory neurosphere forming cells. *Biotech Histochem.* 2005;80(5-6):189–200. doi: 10.1080/10520290500469777.
41. Zhang X, Cai J, Klueber KM, et al. Induction of oligodendrocytes from adult human olfactory epithelial-derived progenitors by transcription factors. *Stem Cells.* 2005;23(3):442–453. doi: 10.1634/stemcells.2004-0274.
42. Zhang X, Cai J, Klueber KM, et al. Role of transcription factors in motoneuron differentiation of adult human olfactory

- neuroepithelial-derived progenitors. *Stem Cells*. 2006;24(2):434–442. doi: 10.1634/stemcells.2005-0171.
43. Zhang X, Klueber KM, Guo Z, et al. Induction of neuronal differentiation of adult human olfactory neuroepithelial-derived progenitors. *Brain Res*. 2006;1073–1074:109–119. doi: 10.1016/j.brainres.2005.12.059.
44. Xiao M, Klueber KM, Lu C, et al. Human adult olfactory neural progenitors rescue axotomized rodent rubrospinal neurons and promote functional recovery. *Exp Neurol*. 2005;194(1):12–30. doi: 10.1016/j.expneurol.2005.01.021.
45. Xiao M, Klueber KM, Guo Z, et al. Human adult olfactory neural progenitors promote axotomized rubrospinal tract axonal reinnervation and locomotor recovery. *Neurobiol Dis*. 2007;26(2):363–374. doi: 10.1016/j.nbd.2007.01.012.
46. Barnett SC, Riddell JS. Olfactory ensheathing cell transplantation as a strategy for spinal cord repair — what can it achieve? *Nat Clin Pract Neurol*. 2007;3(3):152–161. doi: 10.1038/ncpneuro0447.
47. Mackay-Sim A, St John JA. Olfactory ensheathing cells from the nose: clinical application in human spinal cord injuries. *Exp Neurol*. 2011;229(1):174–180. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.08.025.
48. Roisen FJ, Klueber KM, Lu CL, et al. Adult human olfactory stem cells. *Brain Res*. 2001;890(1):11–22. doi: 10.1016/S0006-8993(00)03016-X.
49. Collazos-Castro JE, Muñetón-Gómez VC, Nieto-Sampedro M. Olfactory glia transplantation into cervical spinal cord contusion injuries. *J Neurosurg Spine*. 2005;3(4):308–317. doi: 10.3171/spi.2005.3.4.0308.
50. Tharion G, Indirani K, Durai M, et al. Motor recovery following olfactory ensheathing cell transplantation in rats with spinal cord injury. *Neurol India*. 2011;59(4):566–572. doi: 10.4103/0028-3886.84339.
51. Yamamoto M, Raisman G, Li D, Li Y. Transplanted olfactory mucosal cells restore paw reaching function without regeneration of severed corticospinal tract fibres across the lesion. *Brain Res*. 2009;1303:26–31. doi: 10.1016/j.brainres.2009.09.073.
52. Richter MW, Fletcher PA, Liu J, et al. Lamina propria and olfactory bulb ensheathing cells exhibit differential integration and migration and promote differential axon sprouting in the lesioned spinal cord. *J Neurosci*. 2005;25(46):10700–10711. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3632-05.2005.
53. Zhang SX, Huang F, Gates M, Holmberg EG. Scar ablation combined with LP/OEC transplantation promotes anatomical recovery and P0-positive myelination in chronically contused spinal cord of rats. *Brain Res*. 2011;1399:1–14. doi: 10.1016/j.brainres.2011.05.005.
54. Novikova LN, Lobov S, Wiberg M, Novikov LN. Efficacy of olfactory ensheathing cells to support regeneration after spinal cord injury is influenced by method of culture preparation. *Exp Neurol*. 2011;229(1):132–142. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.09.021.
55. Aoki M, Kishima H, Yoshimura K, et al. Limited functional recovery in rats with complete spinal cord injury after transplantation of whole-layer olfactory mucosa: laboratory investigation. *J Neurosurg Spine*. 2010;12(2):122–130. doi: 10.3171/2009.9.SPINE09233.
56. Centenaro LA, Jaeger Mda C, Ilha J, et al. Olfactory and respiratory lamina propria transplantation after spinal cord transection in rats: effects on functional recovery and axonal regeneration. *Brain Res*. 2011;1426:54–72. doi: 10.1016/j.brainres.2011.09.054.
57. Zhang SX, Huang F, Gates M, et al. Histological repair of damaged spinal cord tissue from chronic contusion injury of rat: a LM observation. *Histol Histopathol*. 2011;26(1):45–58. doi: 10.14670/HH-26.45.
58. Toft A, Scott DT, Barnett SC, Riddell JS. Electrophysiological evidence that olfactory cell transplants improve function after spinal cord injury. *Brain*. 2007;130(Pt 4):970–984. doi: 10.1093/brain/awm040.
59. Yan H, Bunge MB, Wood PM, Plant GW. Mitogenic response of adult rat olfactory ensheathing glia to four growth factors. *Glia*. 2001;33(4):334–342. doi: 10.1002/1098-1136(20010315)33:4<334::aid-glia1032>3.0.co;2-i.
60. Feron F, Perry C, Cochrane J, et al. Autologous olfactory ensheathing cell transplantation in human spinal cord injury. *Brain*. 2005;128(Pt 12):2951–2960. doi: 10.1093/brain/awh657.
61. Lima C, Pratas-Vital J, Escada P, et al. Olfactory mucosa autografts in human spinal cord injury: a pilot clinical study. *J Spinal Cord Med*. 2006;29(3):191–203. doi: 10.1080/10790268.2006.11753874.
62. Tabakow P, Jarmundowicz W, Czapiaga B, et al. Transplantation of autologous olfactory ensheathing cells in complete human spinal cord injury. *Cell Transplant*. 2013;22(9):1591–1612. doi: 10.3727/096368913X663532.
63. Mackay-Sim A, Feron F, Cochrane J et al. Autologous olfactory ensheathing cell transplantation in human paraplegia: a 3-year clinical trial. *Brain*. 2008;131(Pt 9):2376–2386. doi: 10.1093/brain/awn173.
64. Huang H, Chen L, Wang H, et al. Influence of patients' age on functional recovery after transplantation of olfactory ensheathing cells into injured spinal cord injury. *Chin Med J (Engl)*. 2003;116(10):1488–1491.
65. Lim PAC, Tow AM. Recovery and regeneration after spinal cord injury: a review and summary of recent literature. *Ann Acad Med Singapore*. 2007;36(1):49–57.
66. Chhabra HS, Lima C, Sachdeva S, et al. Autologous olfactory [corrected] mucosal transplant in chronic spinal cord injury: an Indian pilot study. *Spinal Cord*. 2009;47(12):887–895. doi: 10.1038/sc.2009.54.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Воронова Анастасия Денисовна, аспирантка кафедры медицинских нанобиотехнологий ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7 (495) 434-13-01, e-mail: nastyanastyav@mail.ru, SPIN-код: 7464-9756, ORCID: 0000-0002-0654-7483

Степанова Ольга Владиславовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории нейрoхимии Федерального медицинского исследовательского центра психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского Адрес: 119034, Москва, пер. Кропоткинский, д. 23, тел.: +7 (495) 637-40-00, e-mail: sms-34@yandex.ru, SPIN-код: 8229-8935, ORCID: 0000-0003-4863-0442

Чадин Андрей Викторович, научный сотрудник лаборатории иммунохимии Федерального медицинского исследовательского центра психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского Адрес: 119034, Москва, пер. Кропоткинский, д. 23, тел.: +7 (495) 637-40-00, e-mail: chadin_777@mail.ru, SPIN-код: 7389-2065, ORCID: 0000-0001-9377-6673

Решетов Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор НОКЦ пластической хирургии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Адрес: 119991, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1, тел.: +7 (499) 248-77-84, e-mail: 2487784@mail.ru, SPIN-код: 3845-6604, ORCID: 0000-0002-0909-6278

Чехонин Владимир Павлович, доктор медицинских наук, академик РАМН, профессор, заведующий кафедрой медицинских нанобиотехнологий ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7 (495) 434-04-56, e-mail: chekhoninnew@yandex.ru, SPIN-код: 8292-2807, ORCID: 0000-0002-5152-6753