

ПРИМЕНЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ СТИМУЛИАЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОГО НЕРВА

© E. C. Петрова

*Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: iemmorphol@yandex.ru*

Целью обзора явилось обобщение результатов экспериментальных исследований по применению стволовых клеток (СК) для улучшения восстановления поврежденных нервов. Отмечаются две основные стратегии, разрабатываемые для соединения сегментов поврежденного нерва: создание современных инженерных конструкций из биодеградируемых материалов и применение в качестве источников ростовых и трофических факторов различных СК. В течение последних 10 лет для улучшения восстановления поврежденных нервов наряду со шванновскими клетками были применены эмбриональные стволовые клетки, нейральные стволовые и прогениторные клетки, клетки обонятельных структур, мезенхимные стволовые клетки костного мозга, жировой ткани и пульпы зуба, стволовые клетки, выделенные из кожи и ее производных. Используются также генетически модифицированные клетки со сверхэкспрессией ростовых факторов. Анализ результатов экспериментальных исследований показал, что применение СК в большинстве случаев способствует росту поврежденных нервных волокон. Подчеркивается необходимость углубленных знаний, касающихся механизмов влияния пересаженных СК на регенерирующие аксоны и эндогенные шванновские клетки. Необходимо также исследование судьбы пересаженных клеток в длительные сроки после операции для исключения риска негативных последствий трансплантации СК. Использование СК при экспериментальном моделировании травмы нерва не только позволяет найти подходы для разработки клеточной терапии, но и открывает возможности изучения закономерностей развития СК, механизмов их дифференцировки и злокачественного перерождения.

Ключевые слова: нерв, регенерация, стволовые клетки, клеточные технологии.

Принятые сокращения: ПНС — периферическая нервная система, ПЦР — полимеразная цепная реакция, СК — стволовые клетки, GFAP — глиальный фибрillлярный кислый белок, NeuN — нейрон-специфический ядерный белок, NF-H — белок нейрофиламентов с мол. массой 200 кДа, NF-M — белок нейрофиламентов с мол. массой 150 кДа, p75 — маркер нейтрофин-рецепторов, S100 — кальцийсвязывающий белок, характерный для шванновских клеток.

В настоящее время для улучшения восстановительных процессов в патологически измененных тканях и органах активно разрабатываются экспериментальные подходы с применением новых клеточных технологий, в которых используются стволовые клетки (СК). Однако закономерности развития СК, особенности их дифференцировки и механизмы их влияния на регенерацию поврежденных тканей изучены недостаточно. Характеристика эмбриональных, региональных и индуцированных СК дана в многочисленных обзорах (Price et al., 1992; Par-navelas et al., 1995; McKay, 1997; Thomson, Marshall, 1998; Pera et al., 2000; Викторов, 2001; Корочкин, 2001; Сухих, Малайцев, 2001; Дыбан, Дыбан, 2002; Сосунов, Челышев, 2002; Murrell et al., 2005; Никольский и др., 2007; Репин и др., 2007; Evans, 2011; Mattis, Svendsen, 2011). Различные СК применяются при разработке методов клеточной терапии для восстановления органов и тканей нервной системы, в частности головного мозга (Gage et al., 1995; Svendsen et al., 1997; Björklund, Lindvall, 2000; Park, 2000; Александрова и др., 2004; Угрюмов и др., 2004; Зинькова и др., 2007; Анисимов, 2009; Ярыгин и др., 2009; Гилеро-

вич и др., 2010; Lindvall, Björklund, 2011) и спинного мозга (McDonald et al., 1999; Lu et al., 2003; Подгорный и др., 2004; Ярыгин и др., 2005; Himes et al., 2006; Челышев, Викторов, 2009; Chen et al., 2010; Gowling, Svendsen, 2011). Использование современных клеточных технологийкоснулось и периферической нервной системы, в частности, регенерации поврежденных нервов. Дегенерация периферических нервных проводников при травматических воздействиях — часто встречаемое заболевание, вызывающее нарушение моторных и сенсорных функций и нередко приводящее к хронической инвалидности. Актуальность проблемы обусловлена распространностью травматических повреждений нервов, неудовлетворительными результатами традиционных способов лечения и недостатком фундаментальных знаний о механизмах регенерации периферических нервных волокон, роли микроокружения, трофических факторов, шванновских клеток (леммоцитов) в этом процессе. Несмотря на большие (по сравнению с ЦНС) потенции к регенерации, восстановление травмированных в результате сдавливания или разрыва нервов не всегда возможно. На месте по-

вреждения нередко возникает соединительнотканный рубец, в формировании которого участвуют клетки эпидермиса и периневрия, и образуется неврома. Это препятствует регенерации аксонов, нарушает проводимость нерва и приводит к хроническим болям. К традиционным способам лечения травмированных нервов относятся хирургические операции по иссечению рубца, соединению дистального и проксимального сегментов нервных стволов путем их сшивания или нейропластики (Каверина, 1975; Григорович, 1981). В тех случаях, когда диастаз между сегментами поврежденного нерва слишком велик и анатомическое сопоставление их невозможно, применяется аутотрансплантация фрагментов нерва. При этом для получения донорского материала приходится иссекать часть здорового (как правило, чувствительного) нерва, пренебрегая локальной потерей чувствительности (Hood et al., 2009). Альтернативой для аутотрансплантации фрагмента нерва являются различные способы направленной регенерации нервных волокон по искусственно созданным путям. Проксимальный и дистальный концы нерва соединяются специальными конструкциями — кондуитами, трубками, футлярами. Первоначально использовались трубы из искусственных материалов (Lundborg et al., 1982) или биологические футляры, например, фрагменты артерии или вены (Чумасов и др., 1986; Ноздрачев, Чумасов, 1999; Klinge et al., 2001). В последние годы для создания искусственных соединений используются биодеградируемые полимеры (Matsumoto et al., 2000; Ijkema-Paassen et al., 2004; Bellamkonda, 2006; Kingham, Terenghi, 2006; Geuna et al., 2007; Чельшев, Богов, 2008). Некоторые биодеградируемые кондуиты на-

шли применение в клинике (Weber et al., 2000; Федяков и др., 2010). Для стимулирования роста регенерирующих нервных волокон делаются попытки использовать как лекарственные препараты (Чельшев и др., 2000; Щудло и др., 2007; Ribeira et al., 2008), так и ростовые факторы (Terenghi, 1999; Sun et al., 2009). Однако применение ростовых факторов для лечения заболеваний нервной системы имеет определенные сложности. Они связаны с высокой биологической активностью применяемых веществ и их побочными действиями, с проблемой доставки этих веществ непосредственно туда, где происходят reparативные процессы, а также с коротким периодом их действия (период их полураспада составляет от нескольких минут до нескольких часов (Tria et al., 1994; Miller et al., 1996; Pfister et al., 2007). В связи с этим разрабатываются экспериментальные подходы, при которых в качестве источников ростовых и трофических факторов применяются СК. Создаются специальные инженерные конструкции — скаффолды, или носители культивируемых клеток. Для ускорения роста регенерирующих аксонов, а также для устранения риска ретроградной дегенерации нейронов соответствующих отделов спинного мозга в ответ на повреждение их аксонов на периферии в такие инженерные конструкции вводят различные СК. За последние 10 лет в научной литературе накопился большой материал по этой проблеме (см. таблицу).

Цель настоящей работы — обобщение и оценка результатов экспериментальных исследований, посвященных разработке клеточных технологий для стимуляции регенерации поврежденных периферических нервов.

Экспериментальные подходы к разработке клеточных технологий, предназначенных для стимуляции регенерации нерва (2000—2011 гг.)

Используемые клетки	Метод повреждения нерва	Сроки наблюдения	Литературный источник (страна)
Шванновские клетки крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, кондуит из полилактогликозида (7 мм)	6 нед	Hadlock et al., 2000 (США)
Шванновские клетки мыши	Передавливание седалищного нерва мыши	10—14 сут	Radtke et al., 2005 (США)
Шванновские клетки крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, синтетический футляр (5 мм)	14 сут	Schmitte et al., 2010 (Германия)
НСПК из гиппокампа эмбрионов крысы E17	Перерезка седалищного нерва крысы, силиконовая трубка (20 мм), наполненная коллагеновым гелем	6 и 10 нед	Murakami et al., 2003 (Япония)
НСПК из закладки неокортика эмбрионов крысы E14	Перерезка большеберцевого нерва крысы, трансплантация в дистальный конец	2 и 10 нед	Baez et al., 2004 (США)
НСПК из закладки неокортика эмбрионов крысы E16	Перерезка лицевого нерва кролика, кондуит из гиалуроновой кислоты и коллагена (7 мм)	12 нед	Zhang et al., 2008 (Китай)
НСПК из взрослого мозга мыши	Передавливание седалищного нерва мыши	14, 21, 28 сут	Li et al., 2009 (Япония)
НСПК из закладки неокортика эмбрионов крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, соединение кондуитом из хитозан/полигликолиевой кислоты (10 мм)	3 мес	Shi et al., 2011 (Китай)
НСПК из мозга эмбриона кролика	Перерезка седалищного нерва кролика	10 сут	Cheng et al., 2011 (Китай)
МСК костного мозга крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, сшивание	3 нед	Dezawa et al., 2001 (Япония)
МСК костного мозга кролика	Перерезка малоберцевого нерва, соединение — фрагмент вены (15 мм)	4, 8 и 12 нед	Choi et al., 2004 (Южная Корея)
МСК костного мозга крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, кондуит (1 см) из полигидроксибутират	15 сут	Tohill et al., 2004 (Великобритания)
	Перерезка седалищного нерва крысы, силиконовая трубка	4 нед	Chen et al., 2006 (Китай)

Продолжение таблицы

Используемые клетки	Метод повреждения нерва	Сроки наблюдения	Литературный источник (страна)
	Перерезка седалищного нерва крысы, кондукт из мышцы (2 см)	3 и 6 нед	Kielhoff et al., 2006a, 2000b (Германия)
МСК костного мозга человека	Перерезка седалищного нерва крысы	3 нед	Shimizu et al., 2007 (Япония)
МСК костного мозга обезьяны	Перерезка локтевого нерва обезьяны, соединение — фрагмент бесклеточного аутологичного нерва (4 см)	6 мес	Hu et al., 2007 (Китай)
	Перерезка радиального нерва обезьяны, соединение — фрагмент бесклеточного аутологичного нерва (1 см)	8 нед	Wang et al., 2008 (Китай)
МСК костного мозга крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, кондукт из полилактогликолида (12 мм)	12 нед	Hou et al., 2006 (Китай)
МСК костного мозга мыши	Перерезка седалищного нерва мышей, футляр из коллагена (6 мм)	2, 4 и 6 нед	Lopes et al., 2006, 2010 (Бразилия)
МСК костного мозга крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, полиэтиленовый футляр (4—7 мм)	6 нед	Ribeiro-Resende et al., 2009 (Бразилия)
МСК костного мозга собаки	Перерезка седалищного нерва собаки, кондукт из хитозана и полигликолевой кислоты (50 мм)	6 мес	Ding et al., 2010 (Китай)
МСК костного мозга крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, кондукт из хитозана (12 мм)	3 мес	Ao et al., 2011 (Китай)
	Перерезка седалищного нерва крысы, кондукт из коллагена (12 мм)	3 мес	Ladak et al., 2011 (Канада)
	Перерезка седалищного нерва крысы, соединение из биоматериала (10 мм)	1—4 и 12 нед	Yang et al., 2011 (Китай)
	Передавливание седалищного нерва крысы	1—3 нед	Dadon-Nachum et al., 2011 (Израиль)
МСК из амниотической жидкости человека	Перерезка седалищного нерва крысы, фибриновый кондукт (5 мм)	8 нед	Pan et al., 2006 (Тайвань)
МСК костного мозга кролика	Перерезка лицевого нерва кролика, соединение — фрагмент аутологичной вены (1 см)	4, 8 и 16 нед	Wang et al., 2011 (Китай)
Фрагменты спинного мозга эмбриона крысы (E12)	Перерезка седалищного нерва крысы, швивание	4 и 8 нед	Xiong et al., 2009 (Япония)
Клетки обонятельных структур крысы	Передавливание седалищного нерва крысы	5 нед—6 мес	Dombrowski et al., 2006 (Германия)
	Перерезка седалищного нерва крысы, силиконовая трубка	30—90 сут	Cheng et al., 2003 (Китай)
Фрагменты обонятельного эпителия крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, швивание	15, 30, 45 и 60 сут	Delaviz et al., 2008 (Иран)
Клетки обонятельных структур	Перерезка седалищного нерва крысы, кондукты из силикона, полилактида, полигликолида (10 мм)	1 и 12 нед	Li et al., 2010 (Китай)
Смесь шванновских клеток и клеток обонятельных структур крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, кондукт из полилактогликолида (20 мм)	8 нед	You et al., 2011 (Китай)
Клетки обонятельных структур крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, швивание	7, 14 и 21 сут	Radtke et al., 2009 (США)
	Перерезка седалищного нерва крысы (20 мм)	3 мес	Guérout et al., 2011 (Франция)
СК волоссяных фолликулов мыши	Перерезка большеберцового или седалищного нерва мыши, швивание	8 нед	Amoh et al., 2005a, 2005b; 2009b (Япония, США)
СК волоссяных фолликулов человека	Перерезка седалищного нерва мыши, швивание	8 нед	Amoh et al., 2009a; 2010 (Япония, США)
СК из дермы кожи крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, футляр из коллагена (16 мм)	2 мес	Marchesi et al., 2007 (Италия)
	Перерезка седалищного нерва крысы, соединение фрагментом аутологичного нерва (после замораживания и оттаивания) (12 мм)	4 и 8 нед	Walsh et al., 2009a (Канада)
	Перерезка большеберцового нерва крысы, модель пролонгированной дегенерации	10 нед	Walsh et al., 2010 (Канада, Саудовская Аравия)
СК из эпидермиса и дермы кожи уха миниатюрных свинок	Перерезка бедренного нерва миниатюрных свинок, соединение футляром из фибрина и коллагена	2 и 4 нед	Park et al., 2011 (Корея)

Продолжение таблицы

Используемые клетки	Метод повреждения нерва	Сроки наблюдения	Литературный источник (страна)
СК из жировой ткани крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, искусственный футляр	14 сут	Erba et al., 2010 (Великобритания)
	Перерезка седалищного нерва крысы и кондукт из фибринова (10 мм)	2 и 16 нед	Di Summa et al., 2010, (Швейцария, Великобритания, Швеция)
	Перерезка седалищного нерва крысы, футляр из фибринова (1 см)	16 нед	Di Summa et al., 2011 (Швейцария, Великобритания, Швеция)
	Перерезка лицевого нерва крысы, соединение — бесклеточный фрагмент артерии (8 мм)	8 нед	Sun et al., 2011 (Китай)
СК из жировой ткани крысы и человека	Перерезка кавернозного нерва крысы	3 мес	Lin et al., 2011a (США)
СК из жировой ткани мыши и человека	Передавливание малоберцового нерва мыши	11 сут	Lopatina et al., 2011 (Россия)
CD133 ⁺ -клетки крови крысы	Перерезка седалищного нерва крысы, силиконовая трубка	8 нед	Kijima et al., 2011 (Япония)
СК пульпы зуба крысы	Перерезка лицевого нерва крысы, силиконовая трубка с коллагеновым гелем	12 сут	Sasaki et al., 2008 (Япония)
Генетически модифицированные шванновские клетки крысы, сверхэкспрессия GDNF	Перерезка седалищного нерва крысы, силиконовая трубка (10 мм)	4, 8, 12 и 16 нед	Li et al., 2006 (Китай)
Генетически модифицированные шванновские клетки крысы	Перерезка малоберцового нерва крысы, силиконовая трубка (12 мм)	90 сут	Gravvanis et al., 2005 (Греция)
Генетически модифицированные НСПК, сверхэкспрессия GDNF	Перерезка бедренного нерва крысы, модель prolongированной дегенерации	6 мес	Heine et al., 2004 (США)
Генетически модифицированные НСПК мыши, сверхэкспрессия BDNF и GDNF	Перерезка седалищного нерва крысы, кондукт из полилактида (15 мм)	8 нед	Fu et al., 2011 (Тайвань)
Генетически модифицированные НСПК крысы, сверхэкспрессия нейротрофина-3	Перерезка бедренного нерва крысы	4 и 12 нед	Lin et al., 2011b (Китай)
Эмбриональные СК мыши и предифференцировка их в НСПК	Перерезка седалищного нерва крысы, удаление сегмента (1 см), сшивание эпиневрия	3 мес	Cui et al., 2009 (США)
СК нервного гребня, полученные из эмбриональных СК и индуцированных СК человека	Перерезка седалищного нерва крысы, кондукт с нанофибрillами	1 мес и 1 год	Wang et al., 2011 (США)

Трансплантація в нерв эмбриональных закладок ЦНС и шванновских клеток

Прежде чем перейти к анализу экспериментов по трансплантации СК в поврежденный нерв, следует остановиться на работах, предшествующих этим исследованиям — пересадке в нерв эмбриональных закладок мозга или шванновских клеток. Первые попытки трансплантировать в периферический нерв эмбриональные закладки ЦНС с целью создания релейных и трофических центров были сделаны в 80—90-е годы XX в. В нерв взрослых крыс пересаживали фрагменты эмбрионального неокортика и спинного мозга (Bernstein, 1983; Richardson, Issa, 1984). Была доказана принципиальная возможность пересадки эмбриональных клеток ЦНС в нерв и прослежены их развитие и дифференцировка в течение нескольких месяцев. В дальнейшем модель нейротрансплантації в нерв использовалась для решения ряда фундаментальных

задач, касающихся гистогенеза эмбриональных закладок мозга: дифференцировки нейронов, синаптогенеза и миелинизации аксонов клеток транспланта (Чумасов, Петрова, 1990, 1993), процессов деления и апоптоза пересаженных клеток, синтеза ими медиаторов, а также влияния на дифференцировку клеток-предшественников трофических факторов (Петрова, Отеллин, 2004, 2006, 2007). Было установлено, что в долгоживущих трансплантах эмбрионального мозга в нерве наблюдаются дистрофические изменения и гибель пересаженных нейронов, а также реактивный глиоз (Doering, Aguayo, 1987; Doering, 1991; Отеллин, Петрова, 1998; Петрова, 2011). В ходе этих работ было показано, что только аксоны нейронов спинного мозга (но не неокортика) выходят за пределы транспланта и миелинируются шванновскими клетками реципиента (Петрова и др., 1997). Установлено, что нейроны аллотранспланта эмбрионального спинного мозга крыс в нерве способны реиннервировать соответст-

вующую мышцу (Erb et al., 1993; Katsuki et al., 1997). Следует отметить, что исследования по трансплантации в нерв эмбрионального спинного мозга, выполненные в 90-е годы прошлого века, были нацелены на восстановление нерва за счет растущих аксонов пересаженных клеток, аналогичные же исследования, проведенные в настоящее время (Xiong et al., 2009), нацелены на стимуляцию регенерирующих аксонов нерва реципиента. С помощью электромиографического исследования и морфометрического анализа регенерирующих аксонов показано, что трансплантация фрагментов спинного мозга в нерв ускоряет рост нервных волокон приблизительно на 20 % по сравнению с контролем (Xiong et al., 2009).

Для улучшения регенерации нервных проводников применяют трансплантацию шванновских клеток в нерв или в кондукт, соединяющий концы перерезанного нерва (Kim et al., 1994; Levi et al., 1994; Hadlock et al., 2000). Используя пересадку шванновских клеток, экспрессирующих зеленый флуоресцентный белок (GFP), удалось доказать, что они способны мигрировать, формировать бунгнеровские ленты и миелинизировать регенерирующие аксоны (Radtke et al., 2005; Schimitte et al., 2010). Шванновские клетки являются источником трофических и ростовых факторов, способствующих росту нервных волокон: цитокинов, инсулиноподобного фактора, глиального нейротрофического фактора (GDNF), фактора роста нервов (NGF), фактора роста фибробластов (FGF), нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), нейрорегулина и др. (Fu, Gordon, 1997; Madduri, Gander, 2010). Развитие современных терапевтических стратегий для восстановления периферических нервов связано с применением генетически модифицированных клеток (Haastert, Grothe, 2007). Проведены эксперименты с использованием шванновских клеток со сверхэкспрессией нейротрофина-3 (NT-3) (Pattlingill et al., 2008), BDNF (Pattlingill et al., 2008), FGF (Timmer et al., 2003; Haastert et al., 2006) и GDNF (Li et al., 2006). Применение таких клеток для терапии регенерирующего нерва существенно улучшает его восстановление (Gravvanis et al., 2005; Li et al., 2006). Исследования последних лет показали, что для стимуляции регенерации поврежденных нервов лучше использовать одновременно две стратегии: пересадку культивированных аутологичных шванновских клеток и скаффолды, соединяющие проксимальный и дистальный сегменты перерезанного нерва (Hood et al., 2009). Наполненные специальным матриксом (из ламинина, фибропластина, матригеля, нановолокон) футляры поддерживают жизнеспособность помещенных в них клеток и способствуют направленной регенерации аксонов (Madduri, Gander, 2010).

Эмбриональные стволовые клетки

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), выделенные из зародышей экспериментальных животных (Evans, Kaufman, 1981; Martin, 1981; Thomson et al., 1995) и человека (Thomson et al., 1998) на стадии бластоциты, обладают способностью дифференцироваться в условиях *in vitro* и *in vivo* в клетки разных типов (Reubinoff et al., 2000; Pera et al., 2006). В настоящее время исследуются различные линии ЭСК человека (Никольский и др., 2007; Крылова и др., 2009). Благодаря своей плюрипотентности ЭСК часто используются в экспериментах по разработке клеточных технологий, предназначенных для восстанов-

ления поврежденных органов. Однако многие авторы подчеркивают, что применение ЭСК в клеточной терапии должно быть ограничено. Это связано как с этическими проблемами, возникающими при использовании клеток эмбриона человека, так и с риском развития в организме реципиента злокачественных образований. В условиях длительного культивирования *in vitro* (Никольский и др., 2007) и при пересадках в эктопические места (Анисимов, 2009; Cao et al., 2009) ЭСК способны трансформироваться в опухолевые клетки. Для снижения риска злокачественного перерождения ЭСК необходима разработка специальных протоколов направленной дифференцировки этих клеток, предшествующей трансплантации (Никольский и др., 2007; Кожухарова и др., 2010). Недавно была проведена направленная дифференцировка ЭСК человека в шванновские клетки (Ziegler et al., 2011). Многие исследователи добились преддифференцировки ЭСК в нейральные предшественники (Baharvand et al., 2007; Joannides et al., 2007). Такие клетки были трансплантированы в поврежденный седалищный нерв крыс (Cui et al., 2009). Через 3 мес часть пересаженных в нерв ЭСК дифференцировалась в шванновские клетки, содержащие белок S100. С помощью электрофизиологических методов было установлено, что восстановление нерва при использовании клеточной терапии происходит быстрее, чем в контроле (при введении в нерв культуральной среды без клеток). Однако уровня проводимости интактного нерва восстановленные нервы не достигали. Стимулирование регенерации нервных волокон с помощью ЭСК связано со способностью этих клеток секретировать ростовые и трофические факторы (Cui et al., 2009).

Нейральные стволовые и прогениторные клетки

Открытие в 90-х годах прошлого века мультипотентных стволовых клеток в эмбриональном мозге млекопитающих (Temple, 1989; Price et al., 1992; Davis, Temple, 1994) положило начало экспериментам по использованию этих СК в клеточной терапии заболеваний нервной системы. В условиях *in vitro* нейральные стволовые и прогениторные клетки (НСПК), выделенные из эмбрионального мозга, активно пролиферируют и образуют специфические структуры — нейросферы, которые и используются для трансплантации. НСПК имеются в мозге и взрослых млекопитающих в так называемых нейрогенных зонах: субвентрикулярной зоне неокортекса и в зубчатой извилине гиппокампа (Luskin, 1993; Parnavelas et al., 1995; Weiss et al., 1996; Johansson et al., 1999; Kukekov et al., 1999; Clark et al., 2000). Обе эти пролиферативные зоны в мозге крыс и мышей были описаны ранее (Altman, Das, 1965, 1966; Грачева, 1968; Резников, Назаревская, 1989). Позднее было установлено, что НСПК субвентрикулярной зоны и субгранулярного слоя зубчатой извилины гиппокампа участвуют в продукции как глиальных, так и нервных клеток. Появление специфических маркеров, позволяющих более точно идентифицировать клетки нервной системы и их предшественников, открыло новые возможности для изучения механизмов регуляции нейrogenеза в мозге (Павлова и др., 2008; Okano, Sawamoto, 2008; Коржевский, 2010). Селективными маркерами НСПК считаются белок промежуточных филаментов нестин (Hockfield, McKay, 1985) и белок Musashi-1 (Sakakibara, Okano, 1997). НСПК

стали первыми стволовыми клетками, которые были применены исследователями для пересадки в поврежденные органы ЦНС с использованием экспериментальных моделей разных патологий головного и спинного мозга (Gage, 1995; McKay, 1997; Snyder et al., 1997; Svendsen et al., 1997, 1999; Björklund, Lindvall, 2000; Trujillo et al., 2009). Сначала целью таких экспериментов было замещение погибших при повреждении нейронов, позднее — стимулирование собственных эндогенных регенеративных способностей мозга. Последнее связано с тем, что НСПК способны выделять ростовые факторы NGF, BDNF и GDNF (Lu et al., 2003).

НСПК крыс, меченные бромдезоксиуридином, трансплантировали в седалищный (Murakami et al., 2003) или большеберцовый (Murakami et al., 2003) нерв крыс. В первой работе установлено, что НСПК дифференцируются в нерве в клетки, подобные шванновским: они экспрессировали маркеры S100 и p75. Во втором случае НСПК дифференцировались в нейроны, экспрессирующие NeuN, β -III-тубулин и глутаматдекарбоксилазу, и глиоциты — GFAP-имmunопозитивные астроциты и p75-имmunопозитивные шванновские клетки. Противоречивость полученных результатов связана, по-видимому, с различием микроокружения пересаженных клеток. В первом случае их вводили в кондит, во втором — непосредственно в нерв. Впоследствии было подтверждено, что в условиях пересадки в кондит НСПК дифференцируются в S100-имmunопозитивные шванновские клетки (Zhang et al., 2008; Shi et al., 2011). Морфометрический анализ числа аксонов и измерение толщины миелиновых оболочек на полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим, показали, что введение НСПК значительно улучшает регенерацию нерва (Baez et al., 2004). Это подтверждено при оценке регенерации травмированного нерва с помощью МРТ (Cheng et al., 2011). Улучшение регенерации нерва наблюдали также при использовании наряду с пересадкой НСПК введение NT-3 (Zhang et al., 2008). По мнению авторов, NT-3 не только поддерживает жизнеспособность пересаженных клеток, но и способствует регенерации эндогенных аксонов и препятствует их дегенерации. НСПК из взрослого мозга крыс также используются для улучшения восстановления нерва (Li et al., 2009). Введенные в хвостовую вену мышей-реципиентов предварительно меченные карбоцианиновыми красителями НСПК были обнаружены в месте повреждения нерва. Они дифференцировались в три типа клеток — шванновские, эндотелиоциты и гладкомышечные.

Трансплантация генетически модифицированных НСПК со сверхэкспрессией трофических факторов (BGNF, GDNF или NT-3) стимулирует регенерацию нерва в большей степени, чем трансплантация немодифицированных СК (Fu et al., 2011), и способствует выживанию нейронов спинного мозга при ретроградной дегенерации после перерезки нерва (Lin et al., 2011). Это открывает широкую перспективу использования таких клеток в качестве терапии нерва. Однако необходимо учитывать наблюдения некоторых исследователей, свидетельствующие о том, что трансфекция генетическими конструкциями СК может сопровождаться нарушением их собственного генома и приводить к развитию опухолей (Михайлов и др., 2010). Отмечено, что туморогенностью обладают и НСПК нейрогенных зон взрослого мозга (Jackson, Alvarez-Buylla, 2008; Siebzehnruhl et al., 2009). Показано, что введение в нерв линии нейральных СК C17.2 приводит к формированию нейробластомы (Johnson et al.,

2008). В связи с этим для пересадки в нерв рекомендуется использовать не нейральные СК, а более дифференцированные клеточные элементы, например клетки обонятельных структур (Radtke et al., 2010).

Клетки обонятельных структур

Клетки обонятельного эпителия и обонятельной луковицы млекопитающих давно привлекают исследователей, занимающихся клеточными технологиями. Они используются для трансплантации при экспериментальном моделировании заболеваний ЦНС, главным образом спинного мозга (Li et al., 1997; Barnett, Riddell, 2004; Radtke et al., 2008; Чельшев, Викторов, 2009; Масгутова и др., 2010; Su, He, 2010). Есть случаи применения такой терапии в клинике, но поскольку проведенных операций немного, делать заключение преждевременно (Huang et al., 2003; Mackay-Sim et al., 2008; Su, He, 2010). Наиболее перспективными для клеточной терапии органов нервной системы считаются глиальные обкладочные клетки обонятельных структур (OECs, olfactory ensheathing cells). Показано, что их применение в комплексе с НСПК, МСК и другими клетками улучшает терапевтический эффект (Agrawal et al., 2004; Викторов и др., 2006; Ao et al., 2007; Morita et al., 2008). Глиальные обкладочные клетки обонятельных структур отличаются от других глиальных элементов: они образуются в эмбриогенезе из обонятельных плакод, а не из нервной трубки, как глия ЦНС, или нервного гребня, как глия ПНС. Они обладают морфологической и функциональной гетерогенностью: экспрессируют маркеры, характерные для шванновских клеток (p75 и S100) и астроцитов (GFAP), и в зависимости от условий культивирования проявляют свойства тех или других клеток. Установлено, что они способны производить ряд биологически активных веществ, стимулирующих рост аксонов: FGF, NGF, BDNF, GDNF, инсулиноподобный фактор роста, а также цитокины и белки экстрацеллюлярного матрикса ламинин и фибронектин (Carter, Roscamps, 2002; Su, He, 2010; Guérout et al., 2011).

В исследованиях, посвященных регенерации нервных проводников, глиальные клетки обонятельных структур сначала применили для трансплантации в зону дорсального корешка после ризотомии, при этом их влияние на регенерацию нервных волокон было минимальным (Su, He, 2010). Позднее их трансплантировали в поврежденный периферический нерв. Улучшение регенерации нерва было показано как электрофизиологическими методами (Li et al., 2010), так и с помощью морфометрического анализа гистологических срезов (Cheng et al., 2003; Dombrowski et al., 2006; Guérout et al., 2011). Число регенерирующих аксонов в дистальном конце поврежденного нерва при использовании глиальных обкладочных клеток увеличивалось приблизительно в 1.3—2.5 раза (Cheng et al., 2003; Radtke et al., 2009). Проводимость нерва при этом возрастала незначительно (Cheng et al., 2003). Однако существуют и другие данные (Radtke et al., 2009), согласно которым проводимость возрастала в 1.5 раза, но не достигала уровня, свойственного интактному нерву.

С помощью использования GFP-имmunопозитивных клеток и применения ультраструктурного иммуногистохимического анализа показано, что глиальные клетки обонятельных структур после пересадки в нерв могут проявлять свойства шванновских клеток и миелинизиро-

вать регенерирующие аксоны реципиента (Dombrowskі et al., 2006). Имеется также мнение, что такие клетки не сами участвуют в миелинизации, а стимулируют путем секреции трофических факторов эндогенные шванновские клетки (Radtke et al., 2009). Любопытно, что сравнительное исследование регенерации поврежденного седалищного нерва после трансплантации клеток обонятельных структур, шванновских клеток и их смеси показало, что в последнем случае регенерация аксонов была более интенсивной, а проводимость нерва оказалась выше (You et al., 2011). По-видимому, это связано со стимулирующим влиянием клеток обонятельных структур на шванновские клетки. При изучении ретроградной дегенерации нейронов спинного мозга после перерезки нерва установлено, что применение клеток обонятельных структур способствует сохранению жизнеспособности нейронов (Cheng et al., 2003). Показано, что не только отдельные клетки, но и целые фрагменты обонятельного эпителия, имеющие в своем составе стволовые и прогениторные элементы (Murtell et al., 2005), также способствуют выживанию нейронов соответствующих отделов спинного мозга после их трансплантации в перерезанный седалищный нерв (Delaviz et al., 2008). В этом случае в качестве контроля изучали нерв, в который пересаживали фрагменты эпителия дыхательный путей. Доступность клеток обонятельных структур для применения в аутологичных пересадках позволяет рассматривать их как источник для разработки клеточной терапии поврежденных нервов. Однако для дальнейшего изучения гистобластических потенций этих клеток и механизмов их действия необходимо усовершенствовать способы их идентификации (Radtke et al., 2011).

Мезенхимные стволовые клетки

Мезенхимные стволовые клетки (МСК), обнаруженные Фридленштейном с сотрудниками (Friedenstein et al., 1966, 1987) в строме костного мозга, — это клетки мезодермального происхождения, которые формируют соединительную ткань во всем организме и дают начало фибробластам, остеобластам, хондроцитам, адипоцитам и эндотелиоцитам (Pitterger et al., 1999; Dennis, Charbord, 2002). Установлено, что МСК могут быть получены из многих тканей взрослого организма: стромы костного мозга, жировой ткани, пульпы зуба, пуповинной крови и др. (Wong, 2011). МСК, выделенные из стромы костного мозга млекопитающих и человека, в определенных условиях *in vitro* и *in vivo* способны дифференцироваться в разные типы клеток: кардиомиоциты, астроциты, нейроны и др. (Koren et al., 1999; Woodbury et al., 2000; Martin et al., 2002; Wislet-Gendebien et al., 2005; Yang et al., 2008). Поверхностными маркерами МСК костного мозга человека являются антигены CD44, CD29, CD63, CD105, CD73, CD166, CD10, CD13, CD73, STRO-1 и SSEA-1 (Пулин и др., 2008). Показано, что МСК синтезируют и секрецируют ростовые и трофические факторы, такие как эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), FGF, трансформирующий фактор роста β (TGF β) (Brohlin et al., 2009), BDNF, GDNF, NGF (Chen et al., 2002, 2007; Caplan, Dennis, 2006; Ribeiro-Resende et al., 2009) и белки экстрацеллюлярного матрикса (коллаген, фибронектин и ламинин) (Chen et al., 2007). Кроме того, они являются иммуномодуляторами (Aggarwal, Pittenger, 2005), вырабатывают антивоспалительные цитоки-

ны и антиапоптотические молекулы (Uccelli et al., 2008). Благоприятное влияние МСК на восстановление периферических нервов было показано в экспериментах на разных видах животных: грызунах (Dezawa et al., 2001; Chen et al., 2006; Keilhoff et al., 2006a, 2006b; Lopes et al., 2006, 2010; Dadon-Nachum et al., 2011), кроликах (Choi et al., 2005; Shen et al., 2010; Wang et al., 2011), собаках (Ding et al., 2010) и приматах (Hu et al., 2007; Wang et al., 2008) (см. таблицу). С первой работы (Dezawa et al., 2001) в научной литературе начинается дискуссия о том, могут ли пересаженные в нерв МСК дифференцироваться в шванновские клетки и миелинизировать регенерирующие аксоны реципиента. При трансплантации МСК в поврежденный спинной мозг получены противоречивые результаты: некоторые авторы показали ремиелинизацию аксонов (Akiyama et al., 2002), у других этот факт не нашел подтверждения (Hunt et al., 2008). Потенциальные возможности дифференцировки МСК в шванновские клетки продемонстрированы в работах, выполненных *in vitro*. Показано, что направленную дифференцировку МСК в шванновские клетки можно осуществить при их совместном культивировании с нейронами спинномозговых ганглиев (Yang et al., 2008) или при добавлении в культуральную среду глиального ростового фактора-2 (GGF-2) (Brohlin et al., 2009). В таких условиях изменяются морфологическая и фенотипическая характеристики МСК. В начале культивирования МСК имеют морфологию фибробластов и экспрессируют CD44, CD54, CD90. Затем клетки приобретают биполярную форму, становятся веретеновидными, похожими на культивируемые шванновские клетки, и начинают экспрессировать маркеры шванновских клеток ($p75$, S100 и GGF-2-рецептор), секретировать BDNF и NGF и при кокультивировании с нейронами стимулируют рост нейритов. Направленная дифференцировка МСК с помощью GFG была сделана перед их трансплантацией в нерв (Tohill et al., 2004). Такие МСК, меченные *in vitro* с помощью ретровирусов с GFP, трансплантировали в место повреждения нерва. Через 15 сут после трансплантации они сохраняли способность экспрессировать S100 и улучшали регенерацию нерва.

МСК широко используются для введения в кондукты, соединяющие сегменты перерезанного нерва. Две группы китайских исследователей (Hu et al., 2007; Wang et al., 2008) в экспериментах, выполненных на обезьянах, для соединения концов перерезанных нервов выбрали аллогенный трансплантат нерва, наполненный аутологичными МСК. При этом были показаны хорошие результаты восстановления нервов. В экспериментах, выполненных на кроликах, МСК помещались во фрагмент вены, соединяющий концы перерезанного нерва (Choi et al., 2005). Морфометрический анализ регенерирующих аксонов показал, что количество миелиновых волокон в группе с МСК в 2 раза выше, чем в контрольной группе, а их диаметр больше контрольных в 1.5 раза. Нередко МСК вводят в инженерные конструкции из биоматериалов — хитозана, полилактида, гликозаминогликанов и др. (Ding et al., 2010; Ao et al., 2011; Ladak et al., 2011; Yang et al., 2011). Сравнительное исследование регенерации нерва после введения в такие футляры МСК и шванновских клеток показало, что регенерация нерва осуществляется одинаково, но не достигает уровня, который наблюдается при применении трансплантата аутологичного нерва (Hou et al., 2006). Однако применение в последующем более совершенных кондуктов с МСК привело к лучшим

результатам, чем трансплантат аутологичного нерва (Yang et al., 2011).

Оценивая степень восстановления поврежденного нерва, некоторые исследователи (Ribeiro-Resende et al., 2009) показали благоприятное влияние трансплантированных в нерв МСК на жизнеспособность нейронов в соответствующих спинномозговых ганглиях. С использованием прижизненного ретроградного мечения нервных клеток с помощью карбоцианинового красителя Dil установлено, что число жизнеспособных нейронов ганглиев после применения СК увеличивалось почти на 20 %.

В последние годы были проведены исследования с применением МСК человека. Установлено, что МСК, полученные как из костного мозга (Shimizu et al., 2007), так и из амниотической жидкости (Pan et al., 2006), способствуют восстановлению поврежденных нервных стволов экспериментальных животных. Показано, что МСК из пупочного канатика способны дифференцироваться в шванновские клетки *in vitro* и при совместном культивировании с нервными клетками стимулируют рост их нейритов (Peng et al., 2011).

Относительно механизмов действия МСК на регенерацию нервов в литературе нет единого мнения. Одним из механизмов считается секреция МСК трофических факторов, способствующих восстановлению нервных волокон. При помощи ПЦР в режиме реального времени показано, что пересаженные в нерв МСК вырабатывают NGF β (Lopes et al., 2006), BDNF, NGF и NT-3 (Peng et al., 2011). Благодаря способности синтезировать трофические факторы они стимулируют пролиферацию шванновских клеток реципиента (Ribeiro-Resende et al., 2009). Другой механизм связан с возможной дифференцировкой МСК в шванновские клетки под влиянием трофических факторов, выделяющихся в проксимальном конце перерезанного нерва. Однако это не всегда находит экспериментальное подтверждение (Ribeiro-Resende et al., 2009; Shen et al., 2010).

К мезенхимным стволовым клеткам относятся клетки пульпы зуба. Показано, что они обладают мультипотентностью и могут в определенных условиях *in vitro* дифференцироваться в разные типы клеток, в частности в нейроны (Miura et al., 2003; Iohara et al., 2006; Koayama et al., 2009). Установлено, что клетки пульпы молочных зубов человека имеют цитофенотипический профиль, сходный с МСК костного мозга: CD44+, CD54+, CD90+, CD105+ и CD106+ (Вахрушев и др., 2010). Показано, что СК пульпы зубов крыс улучшают регенерацию лицевого нерва крысы (Sasaki et al., 2008). СК выделяли у трансгенных крыс, клетки которых содержат GFP, и помещали в кондитут, соединяющий концы перерезанного нерва. Иммуногистохимическое исследование показало, что пересаженные клетки способны дифференцироваться как в шванновские клетки, так и в клетки сосудов.

К мезенхимным стволовым клеткам относятся СК жировой ткани (СКЖТ) (Ding et al., 2011). Обнаруженные в 1999 г. (Stashower et al., 1999) в жировой ткани человека СК выделяются путем диссоциации жировой ткани, полученной в результате липосакции или хирургического удаления жировых отложений, с помощью коллагеназы и эластазы. В специально подобранных условиях культивирования СКЖТ способны дифференцироваться в нейроны, астроциты, остеобласты, клетки миогенного типа и др. (Трактуев и др., 2006). Используя смеси трофических факторов, проводят направленную дифференциров-

ку СКЖТ крыс в шванновские клетки (Kingham et al., 2007; Tse et al., 2010; Kaewkhaw et al., 2011). Помимо CD34+ (маркера гемопоэтических СК) на поверхности СКЖТ обнаружены маркеры, свойственные МСК костного мозга: CD29, CD44, CD105 и CD166. Показано, что СКЖТ могут вырабатывать ангиогенные факторы и факторы роста, синтез которых возрастает при культивировании СКЖТ в условиях гипоксии (Трактуев и др., 2006; Lopatina et al., 2011). Были проведены эксперименты по сравнительному изучению влияния на регенерирующй седалищный нерв крыс СКЖТ, шванновских клеток и МСК костного мозга. Одними исследователями показано, что применение СКЖТ для стимуляции роста нервных волокон лучше, чем использование шванновских клеток (Erba et al., 2010), другие, наоборот, считают, что предпочтительнее использовать шванновские клетки (Di Summa et al., 2010, 2011). В работах 2011 г. в модельных экспериментах на поврежденном нерве использовали СКЖТ не только животных (Sun et al., 2011), но и человека (Lin et al., 2011; Lopatina et al., 2011). Лопатина с сотрудниками (Lopatina et al., 2011) изучали регенерацию передавленного малоберцового нерва у мышей при влиянии СКЖТ мыши и человека. Предифференцировку СКЖТ делали в направлении нервных клеток как источника BGNF. Регенерацию нерва оценивали электрофизиологическими и морфологическими методами. Применили окраску миelinовых оболочек судановым черным и иммуногистохимическое выявление NF-H, периферина, тирозингидроксилазы и GAP43 (маркер конусов роста). Сделан вывод о том, что терапия СКЖТ стимулирует восстановление нерва благодаря выделению BGNF, который непосредственно способствует регенерации аксонов, создает благоприятную среду для формирования конусов роста, препятствует апоптозу и индуцирует пролиферацию шванновских клеток реципиента. Отмечено благоприятное влияние СКЖТ на ангиогенез в нерве.

Таким образом, большинство исследований, выполненных с применением МСК, показало, что эти клетки действительно могут способствовать регенерации поврежденных нервов. Однако, несмотря на наличие положительного эффекта, их применение имеет определенные ограничения. Есть данные, полученные на других моделях и при исследованиях *in vitro*, согласно которым МСК могут трансформироваться в опухолевые клетки (Григорян, Кругляков, 2009; Попов и др., 2009; Михайлов и др., 2010) или поддерживать опухолевый рост за счет антиапоптотического и ангиотропного влияния (Klopp et al., 2011).

Стволовые клетки, полученные из волосяных фолликулов и из дермы кожи

В 2004 г. в волосяных фолликулах мышей были обнаружены клетки с признаками стволовых (Sieber-Blum et al., 2004). Они были названы эпидермальными стволовыми клетками нервного гребня (eNCSCs, epidermal neural crest stem cells). В более поздних работах их стали называть плuriпотентными стволовыми клетками волосяных фолликулов (hfPS, hair-follicle pluripotent stem cells) (Amoh et al., 2009a, 2010). В онтогенезе эти клетки образуются из нервного гребня, эмбриональной закладки, дающей начало многим типам клеток. В специально подобранных условиях культивирования клетки этой группы СК могут дифференцироваться в клеточные типы разных зародышевых листков (Hoffman, 2007). В случае добавле-

ния в культуральную среду потенциального индуктора экспрессии коллагена II типа СК дифференцируются в хондроциты. Добавление в среду нейрорегулина 1 приводит к дифференцировке СК волоссяных фолликулов в клетки, подобные шванновским, а также в нейроны, экспрессирующие β -III-тубулин (Sieber-Blum et al., 2004). Позднее было показано, что такие СК в условиях культивирования образуют структуры, сходные с нейросферами (Mignone et al., 2007). Кроме того, была отмечена их иммунореактивность к маркеру нейральных стволовых клеток нестину и антигену CD34 (Amoh et al., 2005a, 2005b, 2009b). Мультипотентность СК волоссяных фолликулов была доказана и в экспериментах *in vivo*. После пересадки экспрессирующих GFP СК в область центральной части нервной трубки куриного эмбриона они дифференцировались в нейроны ЦНС; после трансплантации в область дорсальной части клетки мигрировали сходно с предшественниками нервного гребня и дифференцировались в разные клеточные типы, в частности в нейроны спинномозговых ганглиев (Mignone et al., 2007). Показано, что в условиях трансплантации СК волоссяных фолликулов подожно бестимусным мышам они дифференцируются в клетки сосудов и нейроны, а в поврежденный нерв — в шванновские клетки (Amoh et al., 2005a, 2005b, 2009b). СК из волоссяных фолликулов человека по своим характеристикам оказались сходными с клетками мышей (Yu et al., 2006, 2010). Нестин-иммунопозитивные и кератин 15-иммунонегативные СК кожи головы человека вводили в поврежденный седалищный нерв мышей (Amoh et al., 2009a, 2010). Установлено, что после трансплантации они дифференцируются в шванновские клетки и способствуют регенерации нервов. Показано улучшение восстановления нерва при трансплантации в нерв не только отдельных клеток, но и фрагментов волоссяных фолликулов, содержащих СК (Amoh et al., 2010).

Из дермы грызунов (Toma et al., 2001) и человека (Toma et al., 2005) были выделены мультипотентные СК. В зависимости от условий культивирования *in vitro* выделенные клетки дифференцировались в нейроны, экспрессирующие β -III-тубулин и NF-M, или GAFP- и S100-иммунопозитивные глиоциты. Позднее было установлено, что применение этих СК может улучшать регенерацию поврежденного нерва крыс (Marchesi et al., 2007). Клетки вводили в кондиты разных видов — синтетический и коллагеновый. Оценка регенерации нерва как физиологическими методами, так и с помощью иммуногистохимического анализа NF-M-позитивных регенерирующих аксонов показала преимущество коллагенового соединения. Что касается пересаженных СК, оказалось, что они дифференцировались в клетки, подобные шванновским, и экспрессировали основной белок миелина и белок S100. Введение СК, полученных из дермы двухдневных крысят, в трансплантат аутологичного нерва также стимулировало регенерацию перерезанного нерва крыс (Walsh et al., 2009). Авторы попытались подтвердить результат на модели пролонгированной дегенерации нерва (Walsh et al., 2010). Используя ретроградное мечение синим прочным, удалось показать, что пересадка СК способствует жизнеспособности нейронов соответствующего отдела спинного мозга. Предполагается, что пересаженные клетки вырабатывают нейтрофины и ингибиторы хондроэтинсульфата. Последний накапливается в нервных стволях при хронической перезске и препятствует росту аксонов. Недавно были выделены и охарактеризованы СК из кожи (эпидермиса и дермы) уха миниатюр-

ных свинок (Park et al., 2012). Было установлено, что они экспрессируют некоторые маркеры, свойственные МСК: CD29, CD44, CD90 и виментин. После предифференции этих клеток *in vitro* в нейрональном направлении проводили их аллотрансплантацию в кондит, соединяющий концы перерезанного бедренного нерва. По интенсивности выявления в нервных стволях маркеров p75 и NGFR (nerve growth factor receptor) судили о степени регенерации. В опытной группе регенерация нервных проводников значительно увеличивалась.

CD133⁺-клетки крови

Иммуногистохимически было установлено, что фракция мононуклеаров периферической крови человека содержит небольшое количество (0.04 %) CD133⁺-клеток (Kijima et al., 2009). Клетки с таким фенотипом встречаются среди предшественников нейронов и эндотелиоцитов. Введение этих клеток в силиконовый футляр, соединяющий концы перерезанного седалищного нерва крысы и содержащий коллагеновый гель, привела к значительному улучшению его регенерации. В этих экспериментах для исключения иммунной реакции использовались бесстимусные животные. Степень регенерации нервов оценивали электрофизиологически и с помощью гистоморфометрического анализа полутонких срезов. Гистологический анализ показал, что через 8 нед после операции для площади, занятой нервной тканью (поперечно срезанными нервными волокнами), в 4 раза превосходила контроль. Толщина миелиновых оболочек этих волокон увеличивалась в 1.5 раза. С помощью двойного мечения, используя антитела к белку S100 и к ядерному антигену клеток человека (HNA), установлено, что пересаженные клетки дифференцируются в шванновские. Однако остается неясным, участвуют ли они в миелинизации регенерирующих аксонов крысы. Авторы изучали также развитие кровеносных сосудов в эндоневрии регенерирующего нерва и отметили, что пересаженные клетки не дифференцировались в эндотелиоциты. Ангиогенез в нерве, к сожалению, не оценивался. Следует отметить, что введение в нерв фракции обычных мононуклеарных клеток периферической крови также приводило к небольшой стимуляции регенерации нерва (Kijima et al., 2009). Этот факт позволяет предположить наличие еще одного механизма положительного влияния введенных клеток на регенерацию нерва. Пересаженные в нерв непосредственно после повреждения экзогенные мононуклеары, трансформируясь в макрофаги, могут участвовать в процессах валлеровской дегенерации и в уборке продуктов распада миелина, тем самым способствуя более быстрой регенерации нерва. Кроме того, эти клетки могут выделять факторы, стимулирующие эндогенные макрофаги нерва реципиента.

Заключение

Анализ экспериментальных исследований, направленных на разработку методов улучшения регенерации нервов, показал, что клеточная терапия действительно может способствовать регенерации периферических нервных волокон. Однако многие аспекты этой проблемы остаются недостаточно изученными. Это касается методов оценки регенерации поврежденных нервов, выбора

стратегии соединения сегментов перерезанного нервного ствола, сроков наблюдений в выполненных экспериментах, механизмов влияния пересаженных СК на регенерацию аксонов ПНС и риска возникновения опухолей при применении СК.

Не все исследователи, делая свои заключения, применяют весь имеющийся в настоящее время комплекс методических подходов, необходимых для оценки регенерации нервных проводников. Этот комплекс должен включать в себя как минимум следующие методы: 1) физиологические тесты; 2) электрофизиологические исследования проводимости нервов; 3) морфометрический анализ поперечных полутонких срезов через нерв; 4) современные методы, позволяющие выявлять регенерирующие аксоны (иммуногистохимическое выявление нейрофиламентов, периферина, β -III-тубулина, белка S100 — маркера шванновских клеток, маркера конусов роста GAP-43 и др.); 5) анализ жизнеспособности и функционального состояния соответствующих нейронов спинного мозга и спинномозговых ганглиев с применением методов ретроградного мечения, который позволяет судить о степени целостности нервных проводников; 6) необходима оценка пролиферации эндогенных шванновских клеток в ответ на повреждение и на трансплантацию СК; 7) изучение степени ангиогенеза в нерве; 8) изучение динамики процесса валлеровской дегенерации.

Современные экспериментальные стратегии в отношении восстановления целостности поврежденных нервных проводников касаются разработки инженерных конструкций, служащих для соединения дистального и проксимального сегментов перерезанного нерва. Дальнейшее совершенствование биодеградируемых материалов для этих конструкций и их наполнителей с применением современных нанотехнологий необходимо не только для улучшения регенерации нервных волокон, но и для обеспечения сохранности введенных в них СК. Следует учитывать, что в зависимости от микроокружения, созданного в скаффолдах, дифференцировка пересаженных СК будет происходить по-разному.

Как видно из данных таблицы, большинство авторов процитированных работ ограничивались небольшими сроками наблюдений после операции. Имеется лишь одна работа со сроком наблюдения в 1 год. Тем не менее, исследование судьбы пересаженных клеток в длительные сроки необходимо для исключения риска негативных последствий трансплантации СК (хронического воспаления, аутоиммунного процесса, формирования опухоли).

В связи с тем что механизмы влияния СК на регенерацию нервных волокон изучены недостаточно, затруднительно отдать предпочтение какой-либо группе клеток для их использования в терапии поврежденного нерва. Исследования последних лет направлены на поиск клеток, которые были бы доступны для аутогенных пересадок. Это МСК костного мозга и жировой ткани, клетки периферической крови, СК из дермы кожи, из волосяных фолликулов и др. Количество работ по использованию этих клеток применительно к нерву пока невелико. Наиболее изученными являются МСК костного мозга (см. таблицу). Однако, как отмечалось ранее, эти клеточные элементы наряду с ЭСК, НСПК и генетически модифицированными клетками в экспериментальных условиях способны трансформироваться в опухолевые. Решению этой проблемы будут способствовать более углубленные фундаментальные исследования направленной дифференцировки этих клеток.

Список литературы

- Александрова М. А., Ревицин А. В., Подгорный О. В., Полтавцева Р. А., Марей М. В., Корочкин Л. И., Сухих Г. Т. 2004. Трансплантация культтивированных нейральных стволовых клеток плода человека в мозг крыс, подвергшихся острой гипоксии. Бюл. эксперим. биол. и мед. 137 (3) : 296—300.
- Анисимов С. В. 2009. Клеточная терапия болезни Паркинсона. IV. Риски и перспективы. Успехи геронтол. 22 (3) : 418—439.
- Вахрушев И. В., Сузальцева Ю. Г., Бурунова В. В., Карапкин П. А., Лупатов А. Ю., Ярыгин К. Н. 2010. Мезенхимальные клетки пульпы молочного зуба: цитофенотип и первичная оценка возможности применения в тканевой инженерии костной ткани. Клеточные технологии в биологии и медицине. 1 : 55—60.
- Викторов И. В. 2001. Стволовые клетки мозга млекопитающих: биология стволовых клеток *in vivo* и *in vitro*. Изв. АН. Сер. биол. 6 : 646—655.
- Викторов И. В., Савченко Е. А., Ухова О. В., Алексеева Н. Ю., Чехонин В. П. 2006. Мультипотентные стволовые и прогениторные клетки обонятельного эпителия. Клеточные технологии в биологии и медицине. 4 : 185—193.
- Гиллерович Е. Г., Соколова И. Б., Павличенко Н. Н., Григорян А. С. 2010. Влияние клеточной терапии на развитие постинсультных и посттравматических процессов в головном мозге. В кн.: Современные направления исследований функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга. М.: Научный мир. 344—347.
- Грачева Н. Д. 1968. Авторадиография синтеза нуклеиновых кислот и белков в нервной системе. Л.: Наука. 244 с.
- Григорович К. А. 1981. Хирургическое лечение повреждений нервов. М.: Медицина. 304 с.
- Григорян А. С., Кругляков П. В. 2009. Спонтанная злокачественная трансформация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в культуре — происходит ли она в действительности? Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 4 (4) : 78—82.
- Дыбан А. П., Дыбан П. А. 2002. Стволовые клетки в экспериментальной и клинической медицине. Мед. акад. журн. 2 (3) : 3—24.
- Зинькова Н. Н., Гиллерович Е. Г., Соколова И. Б., Вийде С. К., Шведова Е. В., Александров Г. В., Кругляков П. В., Кислякова Т. В., Полянцев Д. Г. 2007. Терапия ишемического инсульта головного мозга у крыс с помощью мезенхимальных стволовых клеток. Цитология. 49 (7) : 566—575.
- Каверина В. В. 1975. Регенерация нервов при нейропластических операциях. Л.: Медицина. 200 с.
- Кожухарова И. В., Фридлянская И. И., Земелько В. И., Ковалева З. В., Пуговкина Н. А., Алексеенко Л. Л., Харченко М. В., Аксенов Н. Д., Шатрова А. Н., Гринчук Т. М., Анисимов С. В., Никольский Н. Н. 2010. Получение дофаминовых нейронов из эмбриональных стволовых клеток человека *in vitro*. Цитология. 52 (10) : 875—882.
- Коржевский Д. Э. 2010. Нейрогенез и нейральные стволовые клетки. Мед. акад. журн. 10 (4) : 175—182.
- Корочкин Л. И. 2001. Стволовые клетки — один из путей восстановления нервной ткани. Изв. РАН. Сер. биол. 6 : 666—671.
- Крылова Т. А., Кольцова А. М., Зенин В. В., Гордеева О. Ф., Мусорина А. С., Горячая Т. С., Шлыкова С. А., Каменецкая Ю. К., Пинаев Г. П., Полянская Г. Г. 2009. Характеристики и специфические особенности новых линий эмбриональных стволовых клеток человека. Цитология. 51 (7) : 565—576.
- Масгутова Г. А., Савченко Е. А., Викторов И. В., Масгутов Р. Ф., Чельшиев Ю. А. 2010. Реакция олигодендроглии на повреждение спинного мозга и трансплантацию клеток обонятельной выстилки человека. Клеточные технологии в биол. мед. 1 : 27—32.
- Михайлов В. М., Каминская Е. В., Попов Б. В., Кузоватов С. Н., Скрипкина Н. С., Косякова Г. П., Зайчик А. М., Гринчук Т. М., Никольский Н. Н. 2010. Характеристика опухолей,

- развившихся после введения мышам MDX культивируемых мезенхимных стволовых клеток костного мозга мышей C57BL/6, экспрессирующих белок GFP. Цитология. 52 (10) : 853—857.
- Никольский Н. Н., Габай И. А., Сомова Н. В. 2007. Эмбриональные стволовые клетки человека. Проблемы и перспективы. Цитология. 49 (7) : 529—537.
- Ноздрачев А. Д., Чумасов Е. И. 1999. Периферическая нервная система. СПб.: Наука. 281 с.
- Отеллин В. А., Петрова Е. С. 1998. Строение длительно живущих трансплантатов эмбриональных закладок ЦНС крыс. Морфология. 113 (2) : 39—44.
- Павлова Г. В., Охотин В. Е., Корочкин Л. И., Ревицин А. В. 2008. Геномная регуляция судьбы нейральных стволовых клеток млекопитающих. Генетика. 44 (3) : 293—304.
- Петрова Е. С. 2011. Виментин и глиальный фибрillлярный кислый белок в клетках эктопических нейротрансплантов неокортекса крыс. Морфология. 139 (2) : 22—26.
- Петрова Е. С., Отеллин В. А. 2004. НАДФН-диафораза-позитивные нервные клетки в гетерогенетических трансплантатах спинного мозга. Онтогенез. 35 (2) : 118—123.
- Петрова Е. С., Отеллин В. А. 2006. Изучение митотической активности и дегенерации клеток дорсолатеральной стенки переднего мозгового пузыря эмбрионов крыс на модели эктопической нейротрансплантации. Бюл. эксперим. биол. и мед. 142 (8) : 237—240.
- Петрова Е. С., Отеллин В. А. 2007. Изучение влияния серотонина на гистогенез эмбрионального неокортекса крыс на модели эктопической нейротрансплантации. Журн. эволюц. биохим. 43 (6) : 494—498.
- Петрова Е. С., Чумасов Е. И., Отеллин В. А. 1997. Особенности развития эмбриональных закладок неокортекса и спинного мозга крыс в условиях трансплантации в дистальный конец перерезанного седалищного нерва взрослых животных. Цитология. 39 (9) : 784—788.
- Подгорный О. В., Марей М. В., Карпенко Д. О., Александрова М. А., Полташцева Р. А., Ревицин А. В., Степанов Г. А., Сухих Г. Т. 2004. Иммуногистохимическое исследование фетальных стволовых/прогениторных клеток мозга человека, трансплантированных в травмированной спинной мозг взрослых крыс. Бюл. эксперим. биол. и мед. 137 (3) : 471—474.
- Попов Б. В., Петров Н. С., Михайлова В. М., Томилин А. Н., Алексеенко Л. Л., Гринчук Т. М., Зайчик А. М. 2009. Спонтанная трансформация и иммортализация мезенхимных стволовых клеток в культуре *in vitro*. Цитология. 51 (2) : 91—102.
- Пулин А. А., Сабурина И. Н., Репин В. С. 2008. Поверхностные маркеры, характеризующие мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки [ММСК] костного мозга человека. Клеточная трансплантатология и тканевая инженерия. 3 (3) : 25—30.
- Резников К. Ю. 1981. Пролиферация клеток мозга позвоночных в условиях нормального развития мозга и при его травме. М.: Наука. 150 с.
- Резников К. Ю., Назаревская Г. Д. 1989. Пролиферация и цитогенез в развивающемся гиппокампе. М.: Наука. 125 с.
- Репин В. С., Сабурина И. Н., Сухих Г. Т. 2007. Клеточная биология фетальных тканей и фундаментальная медицина. Клеточные технологии в биологии и медицине. 3 : 123—132.
- Сосунов А. А., Чельышев Ю. А. 2002. Стволовая нервная клетка мозга. Успехи физиол. наук. 33 (1) : 17—28.
- Сухих Г. Т., Малайцев В. В. 2001. Нейральная стволовая клетка: биология и перспективы нейротрансплантации. Бюл. эксперим. биол. и мед. 131 (3) : 244—255.
- Трактуев Д. О., Парфенова Е. В., Ткачук В. А., Марч К. Л. 2006. Стромальные клетки жировой ткани — пластический тип клеток, обладающих высоким терапевтическим потенциалом. Цитология. 48 (2) : 83—94.
- Угрюмов М. В., Коновалов А. Н., Гусев Е. И. 2004. Итоги и перспективы использования клеточных технологий в лечении неврологических заболеваний. Вестник РАМН. 11 : 8—17.
- Федяков А. Г., Древаль О. Н., Севастьянов В. И., Перова Н. В., Кузнецова А. В., Чапанадзе Г. Н. 2010. Экспериментально-клиническое обоснование применения биодеградируемых имплантатов в хирургическом лечении поражений периферических нервов. Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. 3 : 15—20.
- Чельышев Ю. А., Богоев А. А. 2008. Экспериментальное обоснование применения кондукторов нерва. Неврологический вестник. XL (4) : 101—109.
- Чельышев Ю. А., Викторов И. В. 2009. Клеточные технологии ремиелинизации при травме спинного мозга. Неврологический вестник. XLI (1) : 49—55.
- Чельышев Ю. А., Хафизьянова Р. Х., Рагинов И. С., Вафин А. Ю. 2000. Стимуляция регенерации периферического нерва лекарственными средствами. Экспериментальная и клиническая фармакология. 63 (4) : 17—19.
- Чумасов Е. И., Петрова Е. С. 1990. Имплантация эмбриональных закладок неокортекса и спинного мозга в поврежденный периферический нерв взрослой крысы. Бюл. эксперим. биол. и мед. 108 (8) : 198—201.
- Чумасов Е. И., Петрова Е. С. 1993. Цитодифференцировка нейральных элементов спинного мозга и неокортекса крыс в условиях имплантации в периферический нерв. Цитология. 35 (1) : 59—64.
- Чумасов Е. И., Светикова К. М., Гусихина В. И. 1986. Разработка методов соединения поврежденных стволовых клеток с целью восстановления их целостности. Бюл. эксперим. биол. и мед. 9 : 374—377.
- Щудло Н. А., Сизова Т. В., Борисова И. В., Щудло М. М., Щудло М. М., Шамара О. В. 2007. Экспериментальное обоснование применения адьювантной терапии церебролизином для оптимизации посттравматической регенерации периферического нерва. Гений ортопедии. 3 : 35—39.
- Ярыгин В. Н., Банин В. В., Ярыгин К. Н. 2005. Регенерация спинного мозга крыс после торакальной сегментэктомии. Морфология. 127 (2) : 39—43.
- Ярыгин К. Н., Холоденко И. В., Кониева А. А., Бурунова В. В., Таирова Р. Т., Губский Л. В., Чеглаков И. Б., Пирогов Ю. А., Ярыгин В. Н., Скворцова В. И. 2009. Механизмы положительного влияния трансплантации мезенхимальных стволовых клеток плаценты человека на восстановление крыс после экспериментального ишемического инсульта. Бюл. эксперим. биол. и мед. 148 (12) : 621—627.
- Aggarwal S., Pittenger M.F. 2005. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood. 105 : 1815—1820.
- Agrawal A. K., Shukla S., Chaturvedi R. K., Seth K., Srivastava N., Ahmad A., Seth P. K. 2004. Olfactory ensheathing cell transplantation restores functional deficits in rat model of Parkinson's disease: a cotransplantation approach with fetal ventral mesencephalic cells. Neurobiol. Dis. 16 : 516—526.
- Altman J., Das G. D. 1965. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. J. Comp. Neurol. 124 : 319—335.
- Altman J., Das G. D. 1966. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. I. A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain region. J. Comp. Neurol. 126 : 337—389.
- Akiyama Y., Radtke C., Kocsis J. D. 2002. Remyelination of the rat spinal cord by transplantation of identified bone marrow stromal cells. J. Neurosci. 22 : 6623—6630.
- Amoh Y., Hamada Y., Aki R., Kawahara K., Hoffman R.M., Kalsuoka K. 2010. Direct transplantation of uncultured hair-follicle pluripotent stem (hfPS) cells promotes the recovery of peripheral nerve injury. J. Cell Biochem. 110 : 272—277.
- Amoh Y., Kanoh M., Niizuma S., Hamada Y., Kawahara K., Sato Y., Hoffman R. M., Kalsuoka K. 2009a. Human hair follicle pluripotent stem (hfPS) cells promote regeneration of peripheral-nerve injury: an advantageous alternative to ES and iPS cells. J. Cell. Biochem. 107 (5) : 1016—1020.
- Amoh Y., Li L., Kalsuoka K., Hoffman R. M. 2009b. Multipotential nestin-expressing hair follicle stem cells. J. Dermatol. 36 : 1—9.

- Amoh Y., Li L., Campillo R., Kawahara K., Kalsuoka K., Penman S., Hoffman R.M.* 2005a. Implanted hair follicle stem cells form Schwann cell that support repair of severed peripheral nerves. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 102 : 17 734—17 738.
- Amoh Y., Li L., Kalsuoka K., Penman S., Hoffman R.M.* 2005b. Multipotential nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 102 : 5530—5534.
- Ao Q., Fung C. K., Tsui A. Y., Cai S., Zuo H. C., Chan Y. S., Shum D. K.* 2011. The regeneration of transected sciatic nerves of adult rats using chitosan nerve conduits seeded with bone marrow stromal cell-derived Schwann cells. *Biomaterials.* 32 : 787—796.
- Ao Q., Wang A. J., Chen G. Q., Wang S. J., Zuo H. C., Zhang X. F.* 2007. Combined transplantation of neural stem cells and olfactory ensheathing cells for the repair of spinal cord injuries. *Med. Hypotheses.* 69 : 1234—1237.
- Baez J. C., Gajavelli S., Thomas C. K., Grumbles R. M., Aparicio B., Byer D., Tsoulfas P.* 2004. Embryonic cerebral cortex cells retain CNS phenotypes after transplantation into peripheral nerve. *Exp. Neurol.* 189 : 422—425.
- Baharvand H., Mehrjardi N., Hatami M., Kiani S., Rao M., Haghghi M.-M.* 2007. Neural differentiation from human embryonic stem cells in a defined adherent culture condition. *Int. J. Develop. Biol.* 51 : 371—378.
- Barnett S. C., Riddell J. S.* 2004. Olfactory ensheathing cells (OECs) and the treatment of CNS injury: advantages and possible caveats. *J. Anat.* 204 : 57—67.
- Bellamkonda R. V.* 2006. Peripheral nerve regeneration: an opinion on channels, scaffolds and anisotropy. *Biomaterials.* 27 : 3515—3518.
- Bernstein J. J.* 1983. Viability, growth and maturation of fetal brain and spinal cord in the sciatic nerve of adult rat. *J. Neurosci. Res.* 10: 343—350.
- Björklund A., Lindvall O.* 2000. Cell replacement therapies for central nervous system disorders. *Nat. Neurosci.* 3 : 537—544.
- Brohlin M., Mahay D., Novikov L. N., Terenghi G., Wiberg M., Shawcross S. G., Novikova L. N.* 2009. Characterization of human mesenchymal stem cells following differentiation into Schwann cell-like cells. *Neurosci. Res.* 64 : 41—49.
- Cao F., Li Z., Lee A., Liu Z., Chen K., Wang H., Cai W., Chen X., Wu J. C.* 2009. Noninvasive *de novo* imaging of human embryonic stem cell-derived teratoma formation. *Cancer Res.* 69 : 2709—2713.
- Caplan A. I., Dennis J. E.* 2006. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J. Cell. Biochem.* 98 : 1076—1084.
- Carter L. A., Roskams A. J.* 2002. Neurotrophins and their receptors in the primary olfactory neuraxis. *Microsc. Res. Tech.* 58 : 189—196.
- Chen C. J., Ou Y. C., Liao S. L., Chen W. Y., Wu C. W., Wang C. C., Wang W. Y., Huang Y. S., Hsu S. H.* 2007. Transplantation of bone marrow stromal cells for peripheral nerve repair. *Exp. Neurol.* 204 : 443—453.
- Chen G., Hu Y., Wan H., Xia L., Li J., Yang F., Qu X., Wang S., Wang Z.* 2010. Functional recovery following traumatic spinal cord injury mediated by a unique polymer scaffold seeded with neural stem cells and Schwann cells. *Chin. Med. J.* 123 : 2424—2431.
- Chen X., Katakowski M., Li D., Lu D., Wang L., Zhang L., Chen J., Xu Y., Gautam S., Mahmood A., Chopp M.* 2002. Human bone marrow stromal cell cultures conditioned by traumatic brain tissue extracts: growth factor production. *J. Neurosci. Res.* 69 : 687—691.
- Chen X., Wang X.-D., Chen G., Lin W.-W., Yao J., Gu X.-S.* 2006. Study of *in vivo* differentiation of rat bone marrow stromal cells into Schwann cell-like cells. *Microsurgery.* 26 : 111—115.
- Cheng L. N., Duan X. H., Zhong X. M., Guo R. M., Zhang F., Zhou C. P., Shen J.* 2011. Transplanted neural stem cells promote nerve regeneration in acute peripheral nerve traction injury: assessment using MRI. *Amer. J. Roentgenol.* 196 : 1381—1387.
- Cheng S. Y., Ruan H. Z., Wu X. G.* 2003. Olfactory ensheathing cells enhance functional recovery of injured sciatic nerve. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 17 : 18—21.
- Choi B.-H., Zhu S.-J., Kim B.-Y., Huk J.-Y., Lee S.-H., Jung J.-H.* 2005. Transplantation of cultured bone marrow stromal cells to improve peripheral nerve regeneration. *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 34 : 537—542.
- Clarke D. L., Johansson C. B., Wilbertz J., Veress B., Nilsson E., Karlstrom H., Lendahl U., Frisen J.* 2000. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science.* 288 : 1660—1663.
- Cui L., Jiang J., Wei L., Zhou X., Fraser J. L., Snider B. J., Yu S. P.* 2009. Transplantation of embryonic stem cells improves nerve repair and functional recovery after severe sciatic nerve axotomy in rats. *Stem Cells.* 26 : 1356—1365.
- Dadon-Nachum M., Sadan O., Srugo I., Melamed E., Offen D.* 2011. Differentiated mesenchymal stem cells for sciatic nerve injury. *Stem Cell Rev. Rep.* 7 : 664—671.
- Davis A. A., Temple S.* 1994. A self-renewing multipotential stem cells in embryonic rat cerebral cortex. *Nature.* 372 : 263—266.
- Delaviz H., Joghataie M. T., Mehdizadeh M., Bakhtiyari M., Nobakht M., Khoei S.* 2008. Transplantation of olfactory mucosa improve functional recovery and axonal regeneration following sciatic nerve repair in rats. *Iran Biomed. J.* 12 : 197—202.
- Dennis J. E., Charbord P.* 2002. Origin and differentiation of human and murine stroma. *Stem Cells.* 20 : 205—214.
- Dezawa M., Takahashi I., Esaki M., Takano M., Sawada H.* 2001. Sciatic nerve regeneration in rats induced by transplantation of *in vitro* differentiated bone-marrow stromal cells. *Eur. J. Neurosci.* 14 : 1771—1776.
- Ding D. C., Shyu W. C., Lin S. Z.* 2011. Mesenchymal stem cells. *Cell Transplant.* 20 : 5—14.
- Ding F., Wu J., Yang Y., Hu W., Zhu Q., Tang X., Liu J., Gu X.* 2010. Use of tissue-engineered nerve grafts consisting of a chitosan/poly(lactic-co-glycolic acid)-based scaffold included with bone marrow mesenchymal cells for bridging 50-mm dog sciatic nerve gaps. *Tissue Eng. Pt A.* 16 : 3779—3790.
- Di Summa P. G., Kalbermatten D. F., Pralong E., Raffoul W., Kingham P. J., Terenghi G.* 2011. Long-term *in vivo* regeneration of peripheral nerves through bioengineered nerve grafts. *Neuroscience.* 181 : 278—291.
- Di Summa P. G., Kingham P. J., Raffoul W., Wiberg M., Terenghi G., Kalbermatten D. F.* 2010. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 63 : 1544—1552.
- Doering L. C.* 1991. Transplantation of fetal CNS tissue into the peripheral nervous system: a model to study aberrant changes in the neuronal cytoskeleton. *J. Neural. Transplant. Plast.* 2 : 193—205.
- Doering L. C., Aguayo A. J.* 1987. Hirano bodies and other cytoskeletal abnormalities develop in fetal rat CNS grafts isolated for long periods in peripheral nerve. *Brain Res.* 401 : 178—184.
- Dombrowski M. A., Sasaki M., Lankford K. L., Kocsis J. D., Radtke C.* 2006. Myelination and nodal formation of regenerated peripheral nerve fibers following transplantation of acutely prepared olfactory ensheathing cells. *Brain Res.* 1125 : 1—8.
- Erb D. E., Mora R. J., Bunge R. P.* 1993. Reinnervation of adult rat gastrocnemius muscle by embryonic motoneurons transplanted into the axotomized tibial nerve. *Exp. Neurol.* 124 : 372—376.
- Erba P., Mantovani C., Kalbermatten D. F., Pierer G., Terenghi G., Kingham P. J.* 2010. Regeneration potential and survival of transplanted undifferentiated adipose tissue-derived stem cells in peripheral nerve conduits. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 63 : e811—e817.
- Evans M.* 2011. Discovering pluripotency: 30 years of mouse embryonic stem cells. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 12 : 680—686.
- Evans M. J., Kaufman M. H.* 1981. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature.* 292 : 154—156.
- Friedenstein A. J., Chailakhyan R. K., Gerasimov U. V.* 1987. Bone marrow osteogenic stem cells: *in vitro* cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet.* 20 : 263—272.
- Friedenstein A. J., Piatetzky-Shapiro I. I., Petrakova K. V.* 1966. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J. Embryol. Exp. Morph.* 16 : 581—590.

- Fu C. Y., Dai L. G., Chiu I. M., Chen J. R., Hsu S. H. 2011. Sciatic nerve regeneration by microporous nerve conduits seeded with glial cell line-derived neurotrophic factor or brain-derived neurotrophic factor gene transfected neural stem cells. *Artif. Organs.* 35 : 363—372.
- Fu S. Y., Gordon T. 1997. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol. Neurobiol.* 14 : 67—116.
- Gage F. H., Ray J., Fisher L. J. 1995. Isolation, characterization, and use of stem cells from the CNS. *Annu. Rev. Neurosci.* 18 : 159—192.
- Geuna S., Nicolino S., Raimondo S., Gambarotta G., Battiston B., Tos P., Perroteau I. 2007. Nerve regeneration along bioengineered scaffolds. *Microsurgery.* 27 : 429—438.
- Gowing G., Svendsen C. N. 2011. Stem cell transplantation for motor neuron disease: current approaches and future perspectives. *Neurotherapeutics.* 8 : 591—606.
- Gravvanis A. I., Lavdas A., Papalois A. E., Franceschini I., Tsoutsos D. A., Dubois-Dalco M., Matsas R., Ioannovich J. D. 2005. Effect of genetically modified Schwann cells with increased motility in end-to-side nerve grafting. *Microsurgery.* 25 : 423—432.
- Guérout N., Duclos C., Drouot L., Abramovici O., Bon-Mardion N., Lacoume Y., Jean L., Boyer O., Marie J.-P. 2011. Transplantation of olfactory ensheathing cells promotes axonal regeneration and functional recovery of peripheral nerve lesion in rats. *Muscle Nerve.* 43 : 543—551.
- Haastert K., Grothe C. 2007. Gene therapy in peripheral nerve reconstruction approaches. *Curr. Gene. Ther.* 7 : 221—228.
- Haastert K., Lipokatic E., Fischer M., Timmer M., Grothe C. 2006. Differentially promoted peripheral nerve regeneration by grafted Schwann cells over-expressing different FGF-2 isoforms. *Neurobiol. Dis.* 21 : 138—153.
- Hadlock T., Sundback C., Hunter D., Cheney M., Vacanti J. R. 2000. A polymer foam conduit seeded with Schwann cells promotes guided peripheral nerve regeneration. *Tissue Eng.* 6 : 119—127.
- Himes B. T., Neuhuber B., Cileman C., Kushner R., Swanger S. A., Kopen G. C., Wagner J., Shumsky J. S., Fischer I. 2006. Recovery of function following grafting of human bone marrow-derived stromal cells into the injured spinal cord. *Neurorehabil. Neural Repair.* 20 : 278—296.
- Hockfield S., McKay R. D. 1985. Identification of major cell classes in the developing mammalian nervous system. *J. Neurosci.* 5 : 3310—3328.
- Hoffman R. M. 2007. The potential of nestin-expressing hair follicle stem cells in regenerative medicine. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 7 : 289—291.
- Hood B., Levene H. B., Levi A. D. 2009. Transplantation of autologous Schwann cells for the repair of segmental peripheral nerve defects. *Neurosurg. Focus.* 26 : 1—5.
- Hou S.-Y., Zhang H.-Y., Quan D.-P., Liu X.-L., Zhu J.-K. 2006. Tissue-engineered peripheral nerve grafting by differentiated bone marrow stromal cells. *Neuroscience.* 140 : 101—110.
- Hu J., Zhu Q. T., Liu X. L., Xu Y. B., Zhu J. K. 2007. Repair of extended peripheral nerve lesions in rhesus monkeys using acellular allogenic nerve grafts implanted with autologous mesenchymal stem cells. *Exp. Neurol.* 204 : 658—666.
- Huang H., Chen L., Wang H., Xiu B., Wang R., Zhang R., Zhang F., Gu Z., Li Y., Song Y., Hao W., Pang S., Sun J. 2003. Influence of patients age on functional recovery after transplantation of olfactory ensheathing cells into injured spinal cord injury. *Clin. Med. J.* 116 : 1488—1491.
- Hunt D. P., Irvine K. A., Webber D. J., Compston D. A., Blakemore W. F., Chandran S. 2008. Effects of direct transplantation of multipotent mesenchymal stromal/stem cells into the demyelinated spinal cord. *Cell Transplant.* 17 : 865—873.
- Ijkema-Paassen J., Jansen K., Gramsbergen A., Meek M. F. 2004. Transection of peripheral nerves, bridging strategies and effect evaluation. *Biomaterials.* 25 : 1583—1592.
- Iohara K., Zheng L., Ito M., Tomokiyo A., Matsushita K., Nakashima M. 2006. Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis. *Stem Cells.* 24 : 2493—2503.
- Jackson E. L., Alvarez-Buylla A. 2008. Characterization of adult neural stem cells and their relation to brain tumors. *Cells Tissues Organs.* 188 : 212—224.
- Joannides A. J., Webber D. J., Raineteau O., Kelly C., Irvine K. A., Watts C., Rosser A. E., Kemp P. J., Blakemore W. F., Compston A., Caldwell M. A., Allen N. D., Chandran S. 2007. Environmental signals regulate lineage choice and temporal maturation of neural stem cells from human embryonic stem cells. *Brain.* 130 : 1263—1275.
- Johansson C. B., Svensson M., Wallstedt L., Janson A. M., Frisen J. 1999. Neural stem cells in the adult human brain. *Exp. Cell. Res.* 253 : 733—736.
- Johnson T. S., O'Neill A. C., Motarjem P. M., Nassal J., Randolph M., Winograd J. M. 2008. Tumor formation following murine neural precursor cell transplantation in a rat peripheral nerve injury model. *J. Reconstr. Microsurg.* 24 : 545—550.
- Kaewkhaw R., Scutt A. M., Haycock J. W. 2011. Anatomical site influences the differentiation of adipose-derived stem cells for Schwann-cell phenotype and function. *Glia.* 59 : 734—749.
- Katsuki M., Atsuta Y., Hirayama T. 1997. Reinnervation of denervated muscle by transplantation of fetal spinal cord to transected sciatic nerve in the rat. *Brain Res.* 771 : 31—36.
- Keilhoff G., Goihl A., Langnase K., Fansa H., Wolf G. 2006a. Transdifferentiation of mesenchymal stem cells into Schwann cell-like myelinating cells. *Eur. J. Cell Biol.* 85 : 11—24.
- Keilhoff G., Stang F., Goihl A., Wolf G., Fansa H. 2006b. Transdifferentiation of mesenchymal stem cells as alternative therapy in supporting nerve regeneration and myelination. *Cell. Mol. Neurobiol.* 26 : 1235—1252.
- Kijima Y., Ishikawa M., Sunagawa T., Nakanishi K., Kamei N., Yamada K., Tanaka N., Kawamata S., Asahara T., Ochi M. 2009. Regeneration of peripheral nerve after transplantation of CD133+ cells derived from human peripheral blood. *J. Neurosurg.* 110 : 758—767.
- Kim D. H., Connolly S. E., Kline D. S., Voorhies R. M., Smith A., Powell M., Yoes T., Daniloff J. K. 1994. Labeled Schwann cell transplants versus sural nerve grafts in nerve repair. *J. Neurosurg.* 80 : 254—260.
- Kingham P. J., Kalbermatten D. F., Mahay D., Armstrong S. J., Wiberg M., Terenghi G. 2007. Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Exp. Neurol.* 207 : 267—274.
- Kingham P. G., Terenghi G. 2006. Bioengineered nerve regeneration and muscle reinnervation. *J. Anat.* 209 : 511—526.
- Klinge P. M., Groos S., Wewetzer K., Haastert K., Rosahl S., Vafa M. A., Hosseini H., Samii M., Brinker T. 2001. Regeneration of a transected peripheral nerve by transplantation of spinal cord encapsulated in a vein. *Neuroreport.* 12 : 1271—1275.
- Klopp A. H., Gupta A., Spaeth E., Andreeff M., Marini F. 2011. Concise review: dissecting a discrepancy in the literature: do mesenchymal stem cells support or suppress tumor growth? *Stem Cells.* 29 : 11—19.
- Kopen G. C., Prockop D. J., Phinney D. G. 1999. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brain. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 96 : 10 711—10 716.
- Koyama N., Okubo Y., Nakao K., Bessho K. 2009. Evaluation of pluripotency in human dental pulp cells. *J. Oral. Maxillofac. Surg.* 67 : 501—506.
- Kukekov V. G., Laywell E. D., Suslov O., Davies K., Scheffler B., Thomas L. B., O'Brien T. F., Kusakabe M., Steindler D. A. 1999. Myltipotent stem/progenitor cells with similar properties arise from two neurogenic regions of adult human brain. *Exp. Neurol.* 156 : 333—344.
- Ladak A., Olson J., Tredget E. E., Gordon T. 2011. Differentiation of mesenchymal stem cells to support peripheral nerve regeneration in a rat model. *Exp. Neurol.* 228 : 242—252.
- Levi A.D., Guenard V., Aebsicher P., Bunge R.P. 1994. The functional characteristics of Schwann cells cultured from human peripheral nerve after transplantation into a gap within the rat sciatic nerve. *J. Neurosci.* 14 : 1309—1319.

- Li B. S., Jiao S. S., Xu C., You H., Chen J. M.* 2010. PLGA conduit seeded with olfactory ensheathing cells for bridging sciatic nerve defect of rats. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 94 : 769—780.
- Li M., Nishimura H., Sekiguchi H., Kamei N., Yokoyama A., Horii M., Asahara T.* 2009. Concurrent vasculogenesis and neurogenesis from adult neural stem cells. *Circ. Res.* 105 : 860—868.
- Li Q., Ping P., Jiang H., Liu K.* 2006. Nerve conduit filled with GDNF gene-modified Schwann cells enhances regeneration of the peripheral nerve. *Microsurgery.* 26 : 116—121.
- Li Y., Field P. M., Raisman G.* 1997. Repair of adult rat corticospinal tract by transplants of olfactory ensheathing cells. *Science.* 277 : 2000—2002.
- Lin G., Albersen M., Harraz A. M., Fandel T. M., Garcia M., McGrath M. N., Konety B. R., Lue T. F., Lin C. S.* 2011a. Cavernous nerve repair with allogenic adipose matrix and autologous adipose-derived stem cells. *Urology.* 77 : 1509. e1—8.
- Lin S., Xu J., Hu L., Zhang C., Wang Y., Gu Y.* 2011b. Combined application of neurotrophin-3 and neural stem cells is ameliorative to delay of denervated skeletal muscular atrophy after tibial nerve transaction in rat. *Cell Transplant.* 20 : 381—390.
- Lindvall O., Björklund A.* 2011. Cell therapeutics in Parkinson's disease. *Neurotherapeutics.* 8 : 539—548.
- Lopatina T., Kalinina N., Karagyaur M., Stambolsky D., Rubina K., Revischin A., Pavlova G., Parfyonova Y., Teachuk V.* 2011. Adipose-derived stem cells stimulate regeneration of peripheral nerves: BDNF secreted by these cells promotes nerve healing and axon growth *de novo*. *PLoS ONE.* 6 : e17899.
- Lopes F. R. P., de Moura Campos L. C., Correa J. D., Balduino A., Lora S., Langone F., Borojevic R., Martines A. M. B.* 2006. Bone marrow stromal cells and resorbable collagen guidance tubes enhance sciatic nerve regeneration in mice. *Exp. Neurol.* 198 : 457—468.
- Lopes F. R. P., Frattini F., Marques S. A., de Almeida F. M., de Moura Campos L. C., Langone F., Lora S., Borojevic R., Martines A. M. B.* 2010. Transplantation of bone-marrow-derived cells into a nerve guide resulted in transdifferentiation into Schwann cells and effective regeneration of transected mouse sciatic nerve. *Micron.* 41 : 783—790.
- Lu P., Jones L. L., Snyder E. Y., Tuszyński M. H.* 2003. Neural stem cells constitutively secrete neurotrophic factors and promote extensive host axonal growth after spinal cord injury. *Exp. Neurol.* 181 : 115—129.
- Lundborg G., Longo F. M., Varon S.* 1982. Nerve regeneration model and trophic factors *in vivo*. *Brain Res.* 232 : 157—161.
- Luskin M. B.* 1993. Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron.* 11 : 173—189.
- Mackay-Sim A., Féron F., Cochrane J., Bassingthwaite L., Bayliss C., Davies W., Fronek P., Gray C., Kerr G., Licina P., Nowitzke A., Perry C., Silburn P. A., Urquhart S., Geraghty T.* 2008. Autologous olfactory ensheathing cell transplantation in human paraplegia: a 3-year clinical trial. *Brain.* 131 : 2376—2386.
- Madduri S., Gander B.* 2010. Schwann cell delivery of neurotrophic factors for peripheral nerve regeneration. *J. Peripheral Nervous System.* 15 : 93—103.
- Marchesi C., Pluderi M., Colleoni F., Belicchi M., Meregalli M., Farini A., Parolini D., Draghi L., Fruguglietti M. E., Gavina M., Porretti L., Cattaneo A., Battistelli M., Prelle A., Moggio M., Borsig S., Bello L., Spagnoli D., Gaini S. M., Tanzi M. C., Bresolin N., Grimoldi N., Torrente Y.* 2007. Skin-derived stem cells transplanted into resorbable guides provide functional nerve regeneration after sciatic nerve resection. *Glia.* 55 : 425—438.
- Martin D. R., Cox N. R., Hathcock T. L., Niemeyer G. P., Baker H. J.* 2002. Isolation and characterization of multipotential mesenchymal stem cells from feline bone marrow. *Exp. Hematology.* 30 : 879—886.
- Martin G. R.* 1981. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 78 : 7634—7638.
- Matsumoto K., Ohnishi K., Kiyotani T., Sekine T., Ueda H., Nakamura T., Endo K., Shimizu Y.* 2000. Peripheral nerve regeneration across an 80-mm gap bridged by a polyglycolic acid (PGA)-collagen tube filled with laminin-coated collagen fibers: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. *Brain Res.* 868 : 315—328.
- Mattis V. B., Svendsen C. N.* 2011. Induced pluripotent stem cells: a new revolution for clinical neurology? *Lancet. Neurol.* 10 : 383—394.
- McDonald J. W., Liu X. Z., Qu Y., Liu S., Mickey S. K., Turetsky D., Gottlieb D. I., Choi D. W.* 1999. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat. Med.* 5 : 1410—1412.
- McKay R.* 1997. Stem cells in the central nervous system. *Science.* 276 : 66—71.
- Mignone J. L., Roig-Lopez J. L., Fedtsova N., Schones D. E., Magnanas L. N., Maletic-Savatic M., Keyes W. M., Mills A. A., Gleiberman A., Zhang M. Q., Enikolopov G.* 2007. Neural potential of a stem cell population in the hair follicle. *Cell Cycle.* 6 : 2161—2170.
- Miller R. G., Bryan W. W., Dietz M. A., Munsat T. L., Petajan J. H., Smith S. A., Goodpasture J. C.* 1996. Toxicity and tolerability of recombinant human ciliary neurotrophic factor in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 47 : 1329—1331.
- Miura M., Gronthos S., Zhao M., Lu B., Fisher L. W., Robey P. G., Shi S.* 2003. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *PNAS.* 100 : 5807—5812.
- Morita E., Watanabe Y., Ishimoto M., Nakano T., Kitayama M., Yasui K., Fukada Y., Doi K., Karunaratne A., Murrell W. G., Sutharsan R., Mackay-Sim A., Hata Y., Nakashima K.* 2008. A novel cell transplantation protocol and its application to an ALS mouse model. *Exp. Neurol.* 213 : 431—438.
- Murakami T., Fujimoto Y., Yasunaga Y., Ishida O., Tanaka N., Ikuta Y., Ochi M.* 2003. Transplanted neuronal progenitor cells in a peripheral nerve gap promote nerve repair. *Brain Res.* 973 : 17—24.
- Murrell W., Feron F., Wetzing A., Cameron N., Splatt K., Bellette B., Bianco J., Perry C., Lee G., Mackay-Sim A.* 2005. Multipotent stem cells from adult olfactory mucosa. *Develop. Dyn.* 233 : 496—515.
- Okano H., Sawamoto K.* 2008. Neural stem cells: involvement in adult neurogenesis and CNS repair. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 363 : 2111—2122.
- Pan H.-C., Yang D.-Y., Chiu Y.-T., Lai S.-Z., Wang Y.-C., Chang M.-H., Cheng F.-C.* 2006. Enhanced regeneration in injured sciatic nerve by human amniotic mesenchymal stem cells. *J. Clin. Neurosci.* 13 : 570—575.
- Park B. W., Kang D. H., Kang E. J., Byun J. H., Lee J. S., Meng G. H., Rho G. J.* 2012. Peripheral nerve regeneration using autologous porcine skin-derived mesenchymal stem cells. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 6 : 113—124.
- Park K. I.* 2000. Transplantation of neural stem cells: cellular and gene therapy for hypoxic-ischemic brain injury. *Yonsei. Med. J.* 41 : 825—835.
- Parnavelas J. G., Mione M. C., Lavdas A.* 1995. The cell lineage of neuronal subtypes in the mammalian cerebral cortex. *Ciba Found. Symp.* 193 : 41—58.
- Pattingill L. N., Minter R. L., Shepherd R. K.* 2008. Schwann cells genetically modified to express neurotrophins promote spiral ganglion neuron survival *in vitro*. *Neuroscience.* 152 : 821—828.
- Peng J., Wang Y., Zhang L., Zhao B., Chen J., Guo Q., Liu S., Sui X., Xu W., Lu S.* 2011. Human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells differentiate into a Schwann cells phenotype and promote neurite outgrowth *in vitro*. *Brain Res. Bull.* 84 : 235—243.
- Pera M. F., Laslett A., Hawes S. M., Tellis I., Koh K., Nguyen L.* 2006. Isolation and characterization of human ES cells. In: *Embryonic stem cells*. Oxford: Oxford Univ. Press. 238—260.
- Pera M. F., Reubinoff B., Trounson A.* 2000. Human embryonic stem cells. *J. Cell Sci.* 133 : 5—10.
- Pfister L. A., Papaloizos M., Merkle H. P., Gander B.* 2007. Nerve conduits and growth factor delivery in peripheral nerve repair. *J. Peripheral Nervous System.* 12 : 65—82.
- Pitterger M. F., Mackay A. M., Beck S. C., Jaiswal R. K., Douglas R., Mosca J. D., Moorman M. A., Simonetti D. W., Craig S.*

- Marshak D. R. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 284 : 143—147.
- Price J., Williams B., Glove E. 1992. The generation of cellular diversity in the cerebral cortex. *Brain Pathol.* 2 : 23—29.
- Radtke C., Aizer A. A., Agulian S. K., Lankford K. L., Vogt P. M., Kocsis J. D. 2009. Transplantation of olfactory ensheathing cells enhances peripheral nerve regeneration after microsurgical nerve repair. *Brain Res.* 1254 : 10—17.
- Radtke C., Akiyama Y., Lankford K. L., Vogt P. M., Krause D. S., Kocsis J. D. 2005. Integration of engrafted Schwann cells into injured peripheral nerve: axonal association and nodal formation on regenerated axons. *Neurosci. Lett.* 387 : 85—89.
- Radtke C., Redeker J., Jokuszies A., Vogt P. M. 2010. In vivo transformation of neural stem cells following transplantation in the injured nervous system. *J. Reconstr. Microsurg.* 26 : 211—212.
- Radtke C., Sasaki M., Lankford K. L., Gallo V., Kocsis J. D. 2011. CNPase expression in olfactory ensheathing cells. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011 : 608496.
- Radtke C., Sasaki M., Lankford K. L., Vogt P. M., Kocsis J. D. 2008. Potential of olfactory ensheathing cells for cell-based therapy in spinal cord injury. *J. Rehabil. Res. Develop.* 45 : 141—151.
- Reubinoff B. E., Pera M. F., Fong C. Y., Tounson A., Bongso A. 2000. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation *in vitro*. *Nat. Biotechnol.* 18 : 399—404.
- Ribeira C. M. B., Vasconcelos B. C. E., Neto J. C. S., Silva Junqueira V. A., Figueiredo N. G. 2008. Histopathological analysis of gangliosides use in peripheral nerve regeneration after axonotmesis in rats. *Acta Cirurgica Bras.* 23 : 1—9.
- Ribeiro-Resende V.T., Pimentel-Coelho P. M., Mesentier-Lourro L. A., Mendez R. M. B., Mello-Silva J. P., Cabral-da-Silva M. C., de Melo Reis R. A., Mendez-Otero R. 2009. Trophic activity derived from bone marrow mononuclear cells increases peripheral nerve regeneration by acting on both neuronal and glial cell populations. *Neuroscience*. 159 : 540—549.
- Richardson P. M., Issa V. W. K. 1984. Transplantation of embryonic spinal and cerebral tissue to sciatic nerves adult rats. *Brain Res.* 298 : 146—148.
- Sakakibara S., Okano H. 1997. Expression of neural RNA-binding proteins in the post-natal CNS: implication of their roles in neuronal and glial cells development. *J. Neurosci.* 17 : 8300—8312.
- Sasaki R., Aoki S., Yamato M., Uchiyama H., Wada K., Okano T., Ogiuchi H. 2008. Tubulation with dental pulp cells promotes facial nerve regeneration in rats. *Tissue Eng. Pt A*. 14 : 1141—1147.
- Schimmitte R., Tipold A., Stein V. M., Schenk H., Flieshardt C., Grothe C., Haastert K. 2010. Genetically modified canine Schwann cells *in vitro* and *in vivo* evaluation of their suitability for peripheral nerve tissue engineering. *J. Neurosci. Methods*. 186 : 202—208.
- Shen J., Duan X. H., Cheng L. N., Zhong X. M., Guo R. M., Zhang F., Zhou C. P., Liang B. L. 2010. In vivo MR imaging tracking of transplanted mesenchymal stem cells in a rabbit model of acute peripheral nerve traction injury. *J. Magn. Reson. Imaging*. 32 : 1076—1085.
- Shi W., Yao J., Chen X., Lin W., Gu X., Wang X. 2011. The delayed repair of sciatic nerve defects with tissue-engineered nerve grafts in rats. *Art. Cells Blood Substit. Biotech.* 38 : 29—37.
- Shimizu S., Kitada M., Ishikawa H., Itokazu Y., Wakao S., Dezawa M. 2007. Peripheral nerve regeneration by the *in vitro* differentiated-human bone marrow stromal cells with Schwann cell property. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 359 : 915—920.
- Sieber-Blum M., Grim M., Hu Y. F., Szeder V. 2004. Pluripotent neural crest stem cells in the adult hair follicle. *Develop. Dyn.* 231 : 258—269.
- Siebzehnrubl F. A., Jeske I., Muller D., Buslei R., Coras R., Hahnen E., Huttner H. B., Corbeil D., Kaesbauer J., Appl T., Hörrsten S., Blümcke I. 2009. Spontaneous *in vitro* transformation of adult neural precursors into stem-like cancer cells. *Brain Pathol.* 19 : 399—408.
- Snyder E. Y., Park K. I., Flax J. D., Liu S., Rosario C. M., Yanavada B. D., Aurora S. 1997. Potential of neural «stem-like» cells for gene therapy and repair of the degenerating central nervous system. *Adv. Neurol.* 72 : 121—132.
- Stashower M., Smith K., Williams J., Skelton H. 1999. Stromal progenitor cells present within liposuction and reduction abdominoplasty fat for autologous transfer to aged skin. *Dermatol. Surg.* 25 : 945—949.
- Svendsen C. N., Caldwell M. A., Ostenfeld T. 1999. Human neural stem cells: isolation, expansion and transplantation. *Brain Pathol.* 9 : 499—513.
- Svendsen C. N., Caldwell M. A., Shen J., ter Borg M. G., Rosser A. E., Tyers P., Karmiol S., Dunnott S. B. 1997. Long-term survival of human central nervous system progenitor cells transplanted into a rat model of Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 148 : 135—146.
- Su Z., He C. 2010. Olfactory ensheathing cells: biology in neural development and regeneration. *Progr. Neurobiol.* 92 : 517—532.
- Sun F., Zhou K., Mi W. J., Qiu J. H. 2011. Combined use of decellularized allogeneic artery conduits with autologous transdifferentiated adipose-derived stem cells for facial nerve regeneration in rats. *Biomaterials*. 32 : 8118—8128.
- Sun W., Sun C., Zhao H., Lin H., Han Q., Wang J., Ma H., Chen B., Xiao Z., Dai J. 2009. Improvement of sciatic nerve regeneration using laminin-binding human NGF- β . *PLoS ONE*. 4 : e8180.
- Temple S. 1989. Division and differentiation of isolated CNS blast cells in microculture. *Nature*. 340 : 471—473.
- Terenghi G. 1999. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J. Anat.* 194 : 1—14.
- Thomson J. A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S. S., Waknitz M. A., Swiergiel J. J., Marshall V. S., Jones J. M. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 282 : 1145—1147.
- Thomson J. A., Kalishman J., Golos T. G., Durning M., Harris C. P., Becker R. A., Hearn J. P. 1995. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 92 : 7844—7848.
- Thomson J. A., Marshall V. S. 1998. Primate embryonic stem cells. *Curr. Top. Develop. Biol.* 38 : 133—165.
- Timmer M., Robben S., Muller-Ostermeyer F., Nikkhah G., Grothe C. 2003. Axonal regeneration across long gaps in silicone chambers filled with Schwann cells overexpressing high molecular weight FGF-2. *Cell Transplant.* 12 : 265—277.
- Tohill M., Mantovani C., Wiberg M., Terenghi G. 2004. Rat bone marrow mesenchymal stem cells express glial markers and stimulate nerve regeneration. *Neurosci. Lett.* 362 : 200—203.
- Toma J. G., Akhavan M., Fernandes K. J., Barnabe-Heider F., Sadikot A., Kaplan D. R., Miller F. D. 2001. Isolation of multipotent adult stem cells from dermis of mammalian skin. *Nat. Cell Biol.* 3 : 778—784.
- Toma J. G., McKenzie I. A., Bagli D., Miller F. 2005. Isolation and characterization of multipotent skin-derived precursors from human skin. *Stem Cells*. 23 : 727—737.
- Tria M. A., Fusco M., Vantini G., Mariot R. 1994. Pharmacokinetics of nerve growth factor (NGF) following different routes of administration to adult rats. *Exp. Neurol.* 127 : 178—183.
- Trujillo C. A., Schwindt T. T., Martins A. H., Alves J. M., Mello L. E., Ulrich H. 2009. Novel perspectives of neural stem cell differentiation: from neurotransmitters to therapeutics. *Cytometry. Pt A*. 75A : 38—53.
- Tse K. H., Sun M., Mantovani C., Terenghi G., Downes S., Kingham P. J. 2010. *In vitro* evaluation of polyester-based scaffolds seeded with adipose derived stem cells for peripheral nerve regeneration. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 95 : 701—708.
- Uccelli A., Morretta L., Pistoia V. 2008. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 8 : 726—736.
- Walsh S., Biernaskie J., Kemp S. W., Midha R. 2009. Supplementation of acellular nerve grafts with skin derived precursor cells promotes peripheral nerve regeneration. *Neuroscience*. 164 : 1097—1107.
- Walsh S., Gordon T., Addas B. M., Kemp S. W., Midha R. 2010. Skin-derived precursor cells enhance peripheral nerve regeneration following chronic denervation. *Exp. Neurol.* 223 : 221—228.

- Wang A., Tang Z., Park I.-H., Zhu Y., Patel S., Daley G. Q., Li S. 2011.* Induced pluripotent stem cells for neural tissue engineering. *Biomaterials.* 32 : 5023—5032.
- Wang D., Liu X.-L., Zhu J.-K., Jiang L., Hu J., Zhang Y., Yang L.-M., Wang H.-G., Yi J.-H. 2008.* Bridging small-gap peripheral nerve defects using acellular nerve allograft implanted with autologous bone marrow stromal cells in primates. *Brain Res.* 1188 : 44—53.
- Wang X., Luo E., Li Y., Hu J. 2011.* Schwann-like mesenchymal stem cells within vein graft facilitate facial nerve regeneration and remyelination. *Brain Res.* 1383 : 71—80.
- Weber R. A., Breidenbach W. C., Brown R. E., Jabaley M. E., Mass D. P. 2000.* A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast. Reconstr. Surg.* 106 : 1036—1045.
- Weiss S., Dunne C., Hewson J., Wohl C., Wheatley M., Peterson A.C., Reynolds B.A. 1996.* Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. *J. Neurosci.* 16 : 7599—7609.
- Wislet-Gendebien S., Wautier F., Leprince P., Rogister B. 2005.* Astrocytic and neuronal fate of mesenchymal stem cells expressing nestin. *Brain Res. Bull.* 68 : 95—102.
- Wong R. S. 2011.* Mesenchymal stem cells: angels or demons? *J. Biomed. Biotech.* 459510 : 1—8.
- Woodbury D., Schwarz E. J., Prockop D. J., Black I. B. 2000.* Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J. Neurosci. Res.* 61 : 364—370.
- Xiong G., Ozaki N., Sugiura Y. 2009.* Transplanted embryonic spinal tissue promotes severed sciatic nerve regeneration in rats. *Arch. Histol. Cytol.* 72 : 127—138.
- Yang J., Lou Q., Huang R., Shen L., Chen Z. 2008.* Dorsal root ganglion neurons induce transdifferentiation of mesenchymal stem cells along a Schwann cell lineage. *Neurosci. Lett.* 445 : 246—251.
- Yang Y., Yuan X., Ding F., Yao D., Gu Y., Liu J., Gu X. 2011.* Repair of rat sciatic nerve gap by a silk fibroin-based scaffold added with bone marrow mesenchymal stem cells. *Tissue Eng. Pt A.* 17—18 : 2231—2244.
- You H., Wei L., Liu Y., Oudega M., Jiao S. S., Feng S. N., Chen Y., Li B. C. 2011.* Olfactory ensheathing cells enhance Schwann cell-mediated anatomical and functional repair after sciatic nerve injury in adult rats. *Exp. Neurol.* 229 : 158—167.
- Yu H., Fang D., Kumar S. M., Li L., Nguyen T. K., Acs G., Herlyn M., Xu X. 2006.* Isolation of a novel population of multipotent adult stem cells from human hair follicles. *Amer. J. Pathol.* 168 : 1879—1888.
- Yu H., Kumar S. M., Kossenkov A. V., Showe L., Xu X. 2010.* Stem cells with neural crest characteristics derived from the bulge region of cultured human hair follicles. *J. Invest. Dermatol.* 130 : 1227—1236.
- Zhang H., Wei Y. T., Tsang K. S., Sun C. R., Li J., Huang H., Cui F. Z., An Y. H. 2008.* Implantation of neural stem cells embedded in hyaluronic acid and collagen composite conduit promotes regeneration in a rabbit facial nerve injury model. *J. Translational Med.* 6 : 67.
- Ziegler L., Grigoryan S., Yang I. H., Thakor N. V., Goldstein R. S. 2011.* Efficient generation of Schwann cells from human embryonic stem cell-derived neurospheres. *Stem Cell Rev. Rep.* 7 : 394—403.

Поступила 12 XII 2011

THE USE OF STEM CELLS TO STIMULATE REGENERATION OF DAMAGED NERVE

E. S. Petrova

Institute of Experimental Medicine RAMS, St. Petersburg; e-mail: iemmorphol@yandex.ru

The purpose of the review was the summation of the results of experimental studies on the use of stem cells to repair damaged nerves. There are two basic strategies to connect the segment of nerve damage: the use of biodegradable scaffolds and conduits and the application of stem cells. Stem cells are source of the growth and trophic factors. Embryonic stem cells, neural stem/progenitor cells, olfactory ensheathing cells, mesenchymal stem cells, adipose-derived stem cells, dental pulp stem cells, skin-derived precursor cells were used in the past ten years. Genetically modified cells with overexpression of growth factors were also used. Analysis of the results of experimental studies have shown that stem cells contribute to improving the recovery of damaged nerves. Further basic research on the mechanisms of the influence of the transplanted stem cells in regenerating axons and Schwann cells of the recipient are required. Investigation of the fate of transplanted cells in the long term after the operation is necessary to eliminate the risk of any adverse effects of stem cell transplantation. The use of stem cells in experimental modeling of nerve injury allows us to study patterns of development of stem cells, mechanisms of their differentiation and malignant transformation.

Key words: nerve, regeneration, stem cells, cell technologies.