

УДК 57.017.35-611.832

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ НЕРВА (ПРОБЛЕМНО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)

© 2022 г. Е. С. Петрова*

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

**e-mail: iempes@yandex.ru*

Поступила в редакцию 30.05.2022 г.

После доработки 26.06.2022 г.

Принята к публикации 26.06.2022 г.

Настоящий обзор посвящен актуальной проблеме восстановления поврежденных нервов с помощью стволовых клеток. В нем представлен анализ собственных данных и сведений литературы о развитии стволовых клеток мезенхимного и нейрального происхождения в условиях измененного микроокружения при трансплантации в поврежденный нерв лабораторных животных. Проведено сравнение регенеративных потенций пересаженных клеток и сделана оценка их влияния на репаративные процессы в нерве реципиента. Выявление различий воздействия стволовых клеток разного генеза на регенерирующий нерв позволило предположить, что клеточная терапия оказывает влияние на процессы валлеровской дегенерации в ранние сроки после травмы нерва. Сделан вывод о необходимости углубленных фундаментальных исследований молекулярной регуляции процессов валлеровской дегенерации и их изменений под влиянием экзогенных стволовых клеток.

Ключевые слова: регенерация нерва, нейральные стволовые/прогениторные клетки, мезенхимные стволовые клетки, трансплантация

DOI: 10.31857/S0042132422060060

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия активно ведется поиск новых способов стимуляции восстановления поврежденных нервов. В качестве способов улучшения восстановления поврежденных периферических нервных проводников в эксперименте используют воздействие физических факторов: электростимуляции и магнитного поля, применяют новые лекарственные препараты, разрабатывают специальные конструкции — кондуиты, соединяющие проксимальный и дистальный сегменты поврежденного нерва, совершенствуют хирургические способы восстановления целостности нервных проводников, проводят разработку препаратов клеточной и генной терапии (Щаницын и др., 2017; Тутуров и др., 2019; Масгутов и др., 2020; Богов и др., 2021; Ништ и др., 2021; Busuttill et al., 2017; Boldyreva et al., 2018; Sarker et al., 2018; Ehemedah et al., 2019; Mathot et al., 2019; Kubiak et al., 2020; Parker et al., 2021; Idrisova et al., 2022; Lu et al., 2022). В исследованиях последних лет продолжается поиск стволовых клеток (СК), применение которых может стимулировать регенерацию нерва после повреждения (Cofano et al., 2019; Masgutov et al., 2019; Sukhinich et al., 2020a,b; Lavorato et al., 2021; Pan et al., 2021; Siemionow et al., 2022). Следует отметить, что молекулярные механизмы влия-

ния клеточной терапии на ткани реципиента по-прежнему неясны. Трансплантация разных видов СК в поврежденный нерв, в сегмент аутологичного нерва или в кондуит, соединяющий проксимальный и дистальный концы перерезанного нерва, позволяет прояснить ряд вопросов, касающихся взаимоотношений экзогенных и эндогенных клеток, и выдвинуть предположения о механизмах влияния клеточной терапии на дегенерацию и репаративные процессы, происходящие в нерве реципиента после травмы и при различных периферических невропатиях. Целью настоящего обзора стало обобщение собственных данных и сведений литературы о применении для экспериментальной терапии механического повреждения нерва нейральных стволовых/прогениторных клеток и мезенхимных стволовых клеток, полученных из разных источников.

ПРОБЛЕМА ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВНЫХ ПРОВОДНИКОВ ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ

Актуальность изучения восстановления периферических нервов связана с высокой частотой их повреждения при переломах и ушибах верхних и нижних конечностей. Кроме того, сдавление нервных стволов с расстройствами проведения

наблюдает при различных новообразованиях. Расстройства периферической иннервации прослежено при социально значимых заболеваниях: сахарном диабете и рассеянном склерозе. Известно, что нарушение проводимости периферических нервов нередко приводит к инвалидности, что определяет высокую социальную и практическую значимость проблемы.

Изучение регенерации нервов после травмы имеет давнюю историю, начиная с классических исследований (Дойников, 1955; Waller, 1852; Ramon y Cajal, 1928). В настоящее время установлено, что степень успеха восстановления поврежденных нервных проводников зависит от тяжести механической травмы (Sunderland, 1990; Kerns et al., 2021), протяженности дефекта (Шаницын и др., 2017; Siemionow, Brzezicki, 2009) и времени, прошедшего между травмой и операцией (Сотников, 1976; Щедренко и др., 2013; Jonsson et al., 2013).

Применение традиционных хирургических подходов, в частности аутонейропластики, и совершенствование шовной техники не всегда обеспечивает восстановление функций поврежденного нервного проводника. То же касается и кондуитов, соединяющих проксимальный и дистальный сегменты поврежденного периферического нерва. Несмотря на большое разнообразие созданных конструкций (Челышев, Богов, 2008; Шаницын и др., 2017; Valentini et al., 1989; Kemp et al., 2008; Sarker et al., 2018; Sukhinich et al., 2020a), на разработку для них специальных биодеградируемых материалов, на создание наполнителей (скаффолдов), имитирующих структуру эндоневрия, в практической медицине по-прежнему оптимальным методом для соединения дистального и проксимального концов поврежденного проводника остается ауто-трансплантация фрагмента нервного ствола (Grinsell, Keating, 2014; Lovati et al., 2018). Это связано с тем, что искусственные кондуиты не могут обеспечить необходимое для регенерации аксонов микроокружение, в то время как фрагмент донорского нерва, состоящий из нейритов, нейролеммоцитов, клеток кровеносных сосудов, фибробластов и других структурных составляющих эндоневрия, содержит необходимые для роста и регенерации нервных отростков сигнальные молекулы, факторы роста и белки экстрацеллюлярного матрикса.

Восстановление нерва после травмы зависит от тяжести повреждения. Предложена (Sunderland, 1990) классификация степени повреждения нервных проводников по гистологическим признакам, выделено пять степеней тяжести повреждения нерва после травмы. Травма первой степени приводит к временному нарушению проводимости, мотонейроны и нейроны спинальных ганглиев, а также их аксоны при этом не дегенерируют; поражение характеризуется локальной демие-

линизацией. Травма второй степени приводит к нарушению проводимости, непрерывность периневральной и эпиневральной оболочек сохранена. При травме третьей степени происходит поражение эндоневрия, но периневрий и эпиневррий остаются неповрежденными. Восстановление после травмы третьей степени возможно, но может потребоваться хирургическое вмешательство. При повреждении четвертой степени только эпиневррий остается неповрежденным. В этом случае требуется хирургическое лечение. Когда утрачивается непрерывность эндоневрия, в дистальном сегменте происходит валлеровская дегенерация (Wallerian degeneration, WD). Регенерация нейритов затруднена из-за развивающегося отека, сосудистого стаза, ишемии, фиброза, образование рубца усугубляет повреждения пери- и эпиневррия. Травма пятой степени предполагает полное нарушение непрерывности нервного ствола, что приводит к потере двигательной, сенсорной и вегетативной иннервации. При тяжелой травме нерва в результате полной дегенерации аксонов его дистального конца нарушается нейротрофическое влияние на ткани-мишени, что может приводить к необратимой атрофии последних. При abortивной регенерации поврежденного нерва нередко образуется травматическая неврома (Ноздрачев, Чумасов, 1999).

Следует отметить, что повреждения нервных проводников, связанные с нейродегенеративными заболеваниями, в настоящем обзоре не рассматриваются. Патологические механизмы, лежащие в основе механического повреждения нейритов и вторичной их дегенерации вследствие повреждения шванновских клеток и миелина, различны. Многие вопросы о молекулярно-клеточных механизмах развития таких заболеваний (рассеянный склероз, синдром Гийена–Барре и др.) остаются нерешенными (McGonigal et al., 2022) и требуют специального анализа.

Процессы дегенерации и регенерации аксонов в нервном стволе после механического повреждения тесно взаимосвязаны. Для понимания механизмов восстановления нервных волокон и разработки новых способов их стимуляции необходимо исследовать процессы WD. За время, прошедшее с первого описания WD (Waller, 1852) до сегодняшних исследований, структурные изменения в дистальном сегменте поврежденного нерва детально описаны. Молекулярные механизмы, регулирующие эти изменения, до конца не ясны и исследуются в настоящее время с помощью генетических и молекулярно-биологических технологий (Tricaud, Park, 2017).

После повреждения миелинового нервного волокна в течение первых суток наблюдают отслаивание от миелиновых оболочек и дегенерацию осевых цилиндров (Rosell, Neukomm, 2019),

впоследствии происходит биохимический распад миелина. В процессе фагоцитоза продуктов распада миелина участвуют шванновские клетки (ШК, нейролеммоциты), резидентные и гемато-генные макрофаги. В течение первых трех суток после повреждения ШК дистального сегмента нерва проходит этап дедифференцировки. Миелинизирующие ШК преобразуются в немиелини-зирующие клетки, экспрессирующие ряд белков, не свойственных миелинизирующим ШК, и ста-новятся способными к пролиферации и секреции многочисленных цитокинов и сигнальных моле-кул. Они формируют пути последующей регене-рации аксонов, выстраиваясь цепочками в виде так называемых бюнгнеровских тяжей (Jessen, Mirsky, 2016). В период дедифференцировки в них наблюдают ядерную транслокацию β -катенина, повышение экспрессии лизосомальных белков, ак-тивацию аутофагии, реэкспрессию генов, характер-ных для предшественников ШК, и экспрессию ге-нов, несвойственных ни зрелым ШК, ни их предшественникам (Tricaud, Park, 2017). Поэто-му некоторые авторы называют их репарационны-ми ШК (repair Schwann cells) (Jessen, Mirsky, 2016; Zigmond, Echevarria, 2019). Программа дедиффе-ренцировки ШК сопряжена с активацией тран-скрипционного *c-Jun*, который быстро активиру-ется в ШК после повреждения (Jessen, Mirsky, 2016). Показано, что при дедифференцировке ШК задей-ствован также сигнальный путь Notch (Tricaud, Park, 2017). Однако ключевое событие, которое запускает описанный каскад реакций и происхо-дящее в первые часы (возможно, минуты) после травмы, по-прежнему неизвестно.

Практически одновременно с происходящими дегенеративными изменениями в поврежденном нерве начинается регенерация нервных волокон и их рост из проксимального сегмента нерва на периферию. Скорость восстановления нервных во-локон зависит от того, насколько слаженно проис-ходят процессы WD, образование миелиновых овоидов, миграция гематогенных макрофагов, ко-торые, в свою очередь, вместе с популяцией рези-дентных макрофагов выделяют цитокины, при-водящие к активации ШК и способствующие ре-моделированию внеклеточного матрикса.

Одну из ключевых ролей в процессе валлеров-ской демиелинизации играют макрофаги гема-тогенного происхождения (Zigmond, Echevarria, 2019). Эти клетки вместе с другими фагоцитами (резидентными макрофагами и ШК) участвуют в утилизации продуктов распада миелина, препят-ствующих регенерации нервных волокон в повре-жденном нерве. Как и в других тканях, в нерве встречаются макрофаги двух полярных фенотипов — M1 и M2. Макрофаги M1 связаны с провоспали-тельными функциями и нейродегенеративными процессами, макрофаги M2 способствуют репа-ративным процессам (Zigmond, Echevarria, 2019).

В настоящее время особое внимание исследо-вателей привлекают молекулярные механизмы, ко-торые запускают процессы WD, взаимоотношения макрофагов и ШК после травмы и при аутоиммун-ных заболеваниях. Выяснение механизмов молеку-лярно-клеточной регуляции WD позволит предло-жить новые способы стимулирования регенера-ции и сохранения целостности аксонов. В этой связи усилия экспериментальной клеточной те-рапии и генной терапии, направленные на уско-рение роста регенерирующих аксонов, восста-новление их проводимости и на формирование не-обходимого для их регенерации микроокружения, имеют не только практическое, но и важное теоре-тическое значение в области клеточной биологии.

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ НЕРВА

За последние четверть века накоплен большой материал по использованию различных СК для терапии травмированного нерва (Петрова, 2012; Kubiak et al., 2020). Сначала в качестве такой те-рапии применяли сингенные ШК (нейролеммоци-ты), в том числе генетически модифицированные генами нейротрофических факторов. Позднее ста-ли использовать эмбриональные СК, СК волося-ных фолликулов, индуцированные плюрипотент-ные СК и др. В настоящее время для эксперимен-тальной терапии нерва эмбриональные СК не применяют, что связано, по-видимому, с их ту-морогенностью (Ревизишин и др., 2017).

В современной регенеративной биомедицине для экспериментальной клеточной терапии наи-более широко используют мезенхимные стволо-вые клетки (МСК), полученные из разных источ-ников (Аругюнян и др., 2018; Чаплыгина и др., 2022; Mukhamedshina et al., 2019; Murray, Krasno- dembskaya, 2019; Payushina et al., 2022). Для экспе-риментальной клеточной терапии механического повреждения нерва также наиболее часто исполь-зуют МСК (Masgutov et al., 2019; Mathot et al., 2019; Mukhamedshina et al., 2019; Siemionow et al., 2022). В отдельных работах применяют нейральные СК (Gu et al., 2010; Franchi et al., 2012; Xu et al., 2013; Wang et al., 2017). Эксперименты, в которых СК помещают в пересаженный сегмент аутологично-го донорского нерва или в конduit, соединяю-щий проксимальный и дистальный сегменты пе-ререзанного нерва, или непосредственно в повре-жденный нервный ствол, позволяют исследовать влияние их сигнальных молекул и биологически активных веществ на репаративные процессы нерва реципиента.

Многолетний поиск адекватной клеточной те-рапии для нерва связан с разработкой подходов направленного роста аксонов, а также с изучени-ем нейропротекторных факторов для мотонейро-нов и чувствительных нейронов спинальных ган-

глиев, которые могут быть подвержены ретроградным изменениям (хроматолизу и дегенерации) при перерезке нерва. В настоящее время необходимы углубленные фундаментальные исследования свойств СК, благодаря которым они могут оказывать стимулирующее влияние на репаративные процессы, происходящие в нерве после повреждения. Эти исследования касаются выяснения судьбы пересаженных клеток, их дифференцировки в условиях несвойственной для них структурной ниши, особенностей их секретома, возможностей микровезикулярной передачи информации и др. Необходимость проведения такого анализа актуальна прежде всего для нейральных стволовых/прогениторных клеток, а также МСК, которые чаще других используются в экспериментах по стимуляции регенерации нервов.

СВОЙСТВА НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ОСОБЕННОСТИ ИХ СЕКРЕТОМА

Нейральные стволовые клетки (НСК) – мультипотентные клетки, из которых дифференцируются нейроны, астроциты, олигодендроциты, клетки эпендимы. Нейральные стволовые/прогениторные клетки (НСПК) – термин, используемый в регенеративной медицине, введенный для обозначения НСК вместе с ранними коммитированными предшественниками. НСПК описаны в ЦНС взрослых животных и человека: в коре головного мозга, гиппокампе, сетчатке, полосатом теле, обонятельной луковице, в мозжечке и в спинном мозге (Ревещин и др., 2017; Wang et al., 2017; Anderson et al., 2020; Finkel et al., 2021). НСК расположены в определенных нейрогенных структурных нишах, которые содержат молекулярные морфогены и сигнальные молекулы и способствуют поддержке нейрогенеза (Alvarez-Buylla, Lim, 2004).

НСПК, выделенные как из эмбриональных закладок ЦНС, так и из взрослого мозга, нашли широкое применение в регенеративной медицине для терапии нейродегенеративных заболеваний в эксперименте (Ревещин и др., 2017). Показано, что эти клетки способны улучшать регенерацию в ЦНС. Трансплантацию НСПК в эксперименте применяют для терапии нейродегенеративных заболеваний: болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, бокового амиотрофического склероза, нейронного цероидного липофуциноза, болезни Гентингтона, рассеянного склероза, а также при лечении черепно-мозговых травм, травм спинного мозга, инсульта и ряда других патологий (Ревещин и др., 2017; De Gioia et al., 2020; Namestnikova et al., 2020; Finkel et al., 2021).

Первоначально считали, что трансплантация нейрогенных клеток-предшественников в ЦНС может служить заместительной терапией: дифференцируясь в нервные и глиальные клетки, НСК

способны восполнять их недостаток при повреждениях головного и спинного мозга. Есть мнение, что в условиях пересадки экзогенных НСПК в поврежденный нерв они могут дифференцироваться в ШК (Wang et al., 2017). Однако пока предположение о такой трансдифференцировке остается вопросом для дискуссий, предполагают, что это возможно только после предварительной направленной дифференциации НСК в условиях *in vitro* с использованием специальных индукторов. В настоящее время при разработке терапии с использованием НСПК их чаще рассматривают как источник нейротрофических и ростовых факторов.

Секретом НСК подробно описан и проанализирован в ряде обзорных статей (Wang et al., 2017; De Gioia et al., 2020). В секретоме НСК авторы выделяют нейротрофические факторы, факторы роста и другие биологически активные вещества.

Нейротрофические факторы играют важную роль в регуляции дифференцировки, функционирования, синаптогенеза, межклеточных взаимодействий и сохранения жизнеспособности клеточных популяций центральной и периферической нервной системы (ЦНС и ПНС), а также участвуют в репаративных процессах при нейродегенеративных заболеваниях (Попова и др., 2017; Арсентьева, Полякова, 2021; Gomazkov, 2012; Idrisova et al., 2022). К нейротрофическим факторам, вырабатываемым НСК (Wang et al., 2017; De Gioia et al., 2020), относят: нейротрофический фактор мозга (brain derived neurotrophic factor, BDNF), глиальный нейротрофический фактор (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF), фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF), нейротрофины 3 и 4 (neurotrophin-3 и neurotrophin-4, NT3 и NT4), цилиарный нейротрофический фактор (ciliary neurotrophic factor, CNTF). Нейротрофические факторы участвуют в нейропротекции, а также в регуляции роста аксонов и в регуляции процесса миелинизации (Wang et al., 2017). Перечисленные свойства НСК и особенности их секретомы определяют естественное стремление исследователей применить их для клеточной терапии поврежденных нервных проводников (Петрова, 2015; Gu et al., 2010; Franchi et al., 2012; Xu et al., 2013; Wang et al., 2017; Sukhinich et al., 2020a).

Помимо нейротрофических факторов, секретом НСК составляют: основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor, bFGF), эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor, EGF), инсулиноподобные факторы роста 1 и 2 (insulin-like growth factors, IGF-1 и IGF-2), обладающий нейропротекторным эффектом фактор из пигментного эпителия (pigment epithelium-derived factor, PEDF) (Sanagi et al., 2008; De Gioia et al., 2020). Отмечено также, что НСК синтезируют нейронный кадгерин (N-cadherin, NCAD) (De Gioia et al., 2020).

НСК вырабатывают ряд белков, регулирующих ангиогенез и функционирование эндотелиальной выстилки кровеносных сосудов: галектин-1 (Gal-1), цистатин С, кластерин (Haque et al., 2011; De Miguel et al., 2021). Кроме того, в литературе показано, что под воздействием эстрадиола можно индуцировать дифференцировку экзогенных НСК в эндотелиоциты (Sekiguchi et al., 2013). Авторы, используя двойное маркирование доказали, что пересаженные в поврежденный нерв НСК начинают экспрессировать маркер эндотелия белок CD31. Создана и применяется в различных моделях специальная линия НСК с высокой экспрессией фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) (NSC EpoSV-VEGF) (Oh et al., 2012; Lee et al., 2015, 2016).

НСК могут участвовать в восстановлении поврежденных периферических нервов различными способами, что определяется их способностью синтезировать различные молекулы адгезии, хемокиновые рецепторы, а также цитокины, влияющие на иммунный ответ реципиента (Wang et al., 2017).

МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ИХ СЕКРЕТОМ

МСК костного мозга – мультипотентные клетки, способные дифференцироваться в остеобласты, хондроциты, адипоциты, миоциты, вырабатывающие большое число ростовых и трофических факторов, обладающие способностью модулировать иммунные реакции и влиять на репаративные процессы в различных органах и тканях (Kalina et al., 2011; Yarygin et al., 2016; Petrova, 2018).

Для получения МСК в экспериментальной клеточной терапии используют несколько источников: из костного мозга получают СККМ; из подкожной белой жировой ткани – AD-MSCs (adipocyte mesenchymal stem cells); из тканей плода: пуповинной крови, желе Wharton – UC-MSCs (umbilical cord mesenchymal stem cells); из ткани пульпы взрослого/постоянного зуба – DPSCs (dental pulp stem cells); из скелетных мышц – SkSCs (skeletal muscle stem cells); из эндометрия – МСК эндометрия; из менструальной крови – МСК менструальной крови; из кожи – SDSCs (skin derived stem cells) (Cofano et al., 2019; Lavorato et al., 2021; Payushina et al., 2022).

Начиная с 2001 г. (Dezawa et al., 2001) МСК костного мозга животных и человека применяют в экспериментальных исследованиях, нацеленных на восстановление поврежденных нервных проводников. Результаты исследований последних лет обобщены в нескольких обзорах (Mathot et al., 2019; Lavorato et al., 2021).

Так же как НСК, МСК первоначально рассматривали как возможный потенциал для восстанов-

ления утраченных структур в тканях реципиента. При трансплантации в сердце ожидали их дифференцировку в кардиомиоциты, при трансплантации в мозг – в нейроны и астроциты, а при трансплантации в поврежденный нерв или кондуит, соединяющий сегменты нерва, надеялись на их дифференцировку в ШК, участвующие в дегенеративных и репаративных процессах в дистальном сегменте нерва после травмы (Jessen, Mirsky, 2016; Wong et al., 2017). Однако оказалось, что для получения ШК из МСК необходима предварительная направленная дифференциация в условиях *in vitro* с помощью специальных индукторов (Dezawa et al., 2001; Lavorato et al., 2021). В практическом смысле такие разработки некоторыми авторами ставятся под сомнение (Lavorato et al., 2021).

Дискуссия о том, каков механизм влияния МСК – их дифференцировка и замещение погибших клеток или выработка ими биологически активных веществ – продолжается и сегодня. В современных работах особое внимание уделяют популяции МСК, которую называют многолинейно-дифференцирующимися стрессоустойчивыми клетками (multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells) (Kuroda et al., 2010, 2011, 2013).

Клетки Muse составляют всего несколько процентов от МСК костного мозга, присутствуют в разных тканях, идентифицируются с помощью SSEA-3⁺ и обладают плюрипотентностью (Dezawa, 2016). При этом, в отличие от эмбриональных и индуцированных СК, они не обладают туморогенностью. Клетки Muse не нужно индуцировать или проводить генетические манипуляции. Их вводят внутривенно, после чего они способны самостоятельно мигрировать к месту повреждения. Аллогенные клетки Muse остаются в ткани хозяина в виде дифференцированных клеток более полугода. Показан их благоприятный эффект на улучшение сердечной функции, их применение уменьшает зону инфаркта в модельных экспериментах на кроликах (Yamada et al., 2022). Также клетки Muse способны дифференцироваться в нейроны. Отмечено их положительное влияние на восстановительные процессы в поврежденном спинном мозге у грызунов (Kajitani et al., 2021). Описаны отдельные клинические испытания применения этих клеток для лечения инфаркта миокарда, инсульта и буллезного эпидермолиза (Dezawa et al., 2019).

Однако в последние годы многие исследователи видят терапевтический эффект МСК не столько в их дифференцировке, сколько в трофическом влиянии на эндогенные клетки тканей реципиента секретируемых ими факторов. В аналитических обзорах последних лет, которые посвящены изучению секрета МСК, отмечают большое разнообразие вырабатываемых ими биологически активных веществ (Пронина и др., 2019; Ки-

селевский и др., 2021; Chinnadurai et al., 2018; Baez-Jurado et al., 2019). Секретом МСК включает в себя ростовые, антиоксидантные, ангиогенные, иммуносупрессивные и другие факторы, способные оказывать репаративное, антиапоптотическое, противовоспалительное, антифибротическое и антибактериальное влияние на ткани. Среди ростовых факторов описаны BFGF, EGF, трансформирующий фактор роста β (transforming growth factor beta, TGF- β), тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor, PDGF), фактор роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor, HGF); к ангиогенным относят BFGF, VEGF, щелочную фосфомоноэстеразу. МСК секретируют комплекс цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ) и хемокинов (CCL2, CXCL9, CXCL10, CXCL11 и др.) и также могут проявлять провоспалительную активность (Киселевский и др., 2021).

Рассматривая проблему восстановления поврежденных нервных проводников, важно отметить нейротрофические факторы, вырабатываемые мезенхимными стволовыми клетками: NGF, BDNF, GDNF, CNTF, нейрегулин-1, NT3, NT4, нейротрофин-1 (Resch et al., 2018; Cofano et al., 2019).

Показано, что МСК могут индуцировать ангиогенез (прораствание новых кровеносных сосудов из ранее существовавших) посредством секреции тканевого ингибитора металлопротеиназы-1, VEGF, ангиопоэтина-1, HGF, PDGF, IL-6 и IL-8 (Cofano et al., 2019).

В настоящее время для изучения физиологической роли различных компонентов секрета МСК используют их микровезикулы. Показано, что микровезикулы МСК-EV могут переносить от МСК к клеткам-мишеням рецепторы, факторы роста, липиды и различные типы РНК, включая регуляторные микроРНК (Basalova et al., 2020; Takeuchi et al., 2021). Установлено, что полученные из МСК микровезикулы способны встраиваться в нейроны и клетки микроглии, проявляя при этом нейротрофическое действие (Xin et al., 2020).

Таким образом, проведенный анализ показал, что МСК отличаются от СК нейрогенного происхождения составом своего секрета — синтезируя практически все нейротрофические факторы, свойственные НСК, они вырабатывают более широкий спектр ангиогенных белков и цитокинов. Это следует учитывать при выборе способа клеточной терапии повреждений нервных проводников.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ НСПК И МСК В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ТРАВМЕ НЕРВА

Применение разработанной в Отделе общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины стандартизированной модели

трансплантации СК в поврежденный седалищный нерв взрослых крыс позволило провести сравнительное исследование субпериневральной трансплантации НСПК и МСК, выполненной с целью выяснения особенностей их дифференцировки в условиях измененного микроокружения и их влияния на репаративные процессы в нерве реципиента.

Трансплантацию НСПК, полученных путем диссоциации эмбриональных закладок ЦНС и ПНС, под периневрий крыс-реципиентов осуществляли однократно и изучали состояние трансплантатов в течение двух месяцев (Петрова, 2015). Пересаженные клетки после трансплантации обнаружены в месте пересадки — в нервном стволе седалищного нерва, часть из них сохраняет жизнеспособность в течение 60 сут и дифференцируется в нейроны и глиоциты. Степень выживаемости и направление дифференцировки пересаженных НСПК зависит от эмбриональной стадии развития донора (Sukhinich et al., 2020a).

Показано, что диссоциированные клетки эмбриональных закладок ЦНС продолжают дифференцироваться в глиальном и нейрональном направлениях (Петрова, 2015). Через 30–60 сут после трансплантации в толще нервного ствола в окружении нервных волокон реципиента наблюдали небольшие скопления клеток, содержащих ядерный антиген NeuN, являющийся селективным маркером нервных клеток (Алексеева и др., 2015). Установлено, что диссоциированные клетки эмбриональных закладок реализуют свои гистобластические потенции и дифференцируются в нейроны и глиоциты, свойственные соответствующим закладкам. Так, при пересадке меченных бромдезоксисуридином НСПК спинального ганглия крысы через 21–60 сут после операции в трансплантатах обнаруживают скопления чувствительных нейронов с характерной для них округлой формой, большим ободком цитоплазмы и крупным ядром с четко выраженными ядрышками. Среди глиоцитов встречают клетки, подобные клеткам-сателлитам, синтезирующие белок S100 (Петрова, 2015). Если для трансплантации в нерв использовали взвесь диссоциированных клеток периферного мозгового пузыря, то часть пересаженных клеток дифференцировалась в нейроны, часть — в эпендимоциты (Петрова, 2015).

Дальнейшие исследования, посвященные сравнению субпериневральной трансплантации в нерв нейрогенных и мезенхимных СК, показали, что сроки выживания НСПК и МСК костного мозга крыс после трансплантации в поврежденный седалищный нерв взрослого животного различны. По-разному происходит и дифференцировка этих клеток в условиях измененного микроокружения.

В отличие от НСПК, экзогенные меченные бромдезоксисуридином МСК выявляются в нерве реципиента непродолжительное время (5–7 сут) (Петрова et al., 2018a). В более поздние сроки они перестают идентифицироваться, вероятно, большинство из них дегенерирует. На вопрос о перио-

де выживания МСК после пересадки в поврежденный нерв или кондуит, соединяющий проксимальный и дистальный сегменты перерезанного нерва, невозможно ответить однозначно. Срок выживания клеток в условиях измененного микроокружения зависит от вида СК, манипуляций, которым подвергали клетки при выделении и трансплантации, а также от их свойств. Показано, что МСК, выделенные из пупочного канатика, способны выживать в течение двух недель после пересадки (Gärtner et al., 2014). Другими авторами на других экспериментальных моделях отмечено непродолжительное время выживания экзогенных МСК (Weiss et al., 2019). Установлено, что экзогенные МСК после введения крысам с острым респираторным дистресс-синдромом погибали по механизмам аутофагии и апоптоза (Weiss et al., 2019).

В отличие от диссоциированных клеток эмбриональных закладок ЦНС и ПНС, трансплантированные МСК после операции обнаруживали не только в месте пересадки, то есть под периневрием в толще нервного ствола, но и в эпиневральной и периневральной оболочках нерва реципиента. Нередко пересаженные меченные бромдезоксифлуоридом МСК наблюдали в составе стенок регенерирующих кровеносных сосудов эпиневрия. Проникновение пересаженных субпериневрально МСК в оболочки нерва реципиента объясняют нарушением гематоневрального барьера после процедур передавливания нерва и трансплантации клеток, а также способностью МСК к миграции (Kalinina et al., 2011; Petrova, 2018). Часть пересаженных МСК обнаруживали в толще нерва крысы-реципиента между нервными волокнами. Предположительно они могут дифференцироваться в направлении ШК, эндоневральных фибробластов, клеток кровеносных сосудов. Та часть МСК, которую обнаруживали в оболочках нерва реципиента, была сосредоточена вокруг кровеносных сосудов и в жировой ткани эпиневрия. Отдельные экзогенные МСК дифференцируются в адипоциты эпиневрия и периневральные клетки (Petrova et al., 2018a).

Позднее было установлено, что влияние трансплантатов МСК и НСПК на репаративные процессы, происходящие в поврежденном нерве реципиента (его васкуляризацию, регенерацию аксонов и разрастание эпиневральной и периневральной оболочек), различно (Петрова и др., 2021; Petrova et al., 2018b, 2021; Petrova, Kolos, 2021). После введения МСК, но не НСПК, в эндоневрии нерва реципиента возрастала плотность микрососудов и утолщались периневральная и эпиневральная оболочки. Изменение васкуляризации и структурные изменения в оболочках дистального сегмента нерва после повреждения и применения МСК сопряжены с особенностями секрета этих клеток. Как отмечено в предыдущих разделах настоящего обзора, МСК вырабатывают большее число разнообразных ангиогенных факторов, чем нейрогенные предшественники. Кроме того, они секретируют адипогенные факторы: FGF (fi-

broblast growth factor), IGF-1 и могут влиять на адипогенез в эпиневрии нерва реципиента.

Сравнительное исследование трансплантатов диссоциированных клеток эмбрионального спинного мозга (СМ) и МСК показало, что их влияние на регенерацию аксонов реципиента также различно. После введения нейрогенных предшественников, полученных из эмбриональных закладок спинного мозга, в дистальном сегменте поврежденного нерва наблюдается увеличение числа регенерирующих нервных волокон, по сравнению с животными контрольной группы, седалищный нерв которых поврежден путем наложения лигатуры, но вместо суспензии клеток введена культуральная среда в том же объеме (Петрова, 2015). Это свидетельствует о том, что под влиянием клеточной терапии скорость роста нервных волокон возрастает. Следует отметить, что при использовании НСПК из других эмбриональных закладок (клеток стенки переднего мозгового пузыря или эмбриональных спинальных ганглиев) такого эффекта не наблюдается (Петрова, 2015). Это может быть связано с особенностями секрета клеток эмбрионального СМ, с медиаторами и нейропептидами, синтезирующимися нейронами СМ. Клетки из эмбриональной закладки СМ наиболее родственны седалищному нерву, поскольку большинство нервных волокон в его составе представлены отростками нейронов СМ.

Другое предположение касается того факта, что пересаженные в нерв предшественники двигательных нейронов, дифференцируясь, простирают свои отростки на периферию, увеличивая тем самым число регенерирующих волокон в дистальном сегменте поврежденного нерва. О возможности роста аксонов пересаженных нейронов на периферию свидетельствуют выполненные в 1990-е гг. работы по трансплантации эмбрионального спинного мозга в дистальный конец перерезанного нерва (Erb et al., 1993; Petrova et al., 1998; Thomas et al., 2000). Результаты этих исследований находят подтверждение и в настоящее время. Показано, что клетки эмбрионального ганглия дорзального корешка, пересаженные в дистальный конец поврежденного нерва, индуцируют регенерацию чувствительных нервных волокон и реиннервацию мышц (Asano et al., 2019).

Исследование влияния одноразовой субпериневральной трансплантации МСК в седалищный нерв крысы показало, что такая пересадка способствует увеличению через 2 мес. после операции доли толстых регенерирующих нервных волокон в его дистальном конце (Petrova, Kolos, 2021). Мы полагаем, что пересаженные в поврежденный нерв МСК, вырабатывая нейротрофические и ростовые факторы, создают благоприятное микроокружение для регенерации нервных волокон и могут ускорять репаративные процессы — рост регенерирующих аксонов, увеличение их калибра, их миелинизацию. Можно также предположить, что благодаря паракринному влиянию МСК

на эндогенные клетки нерва реципиента (нейролеммоциты, фибробласты, клетки периневрия, клетки стенок кровеносных сосудов, макрофаги) их трансплантация способствует сохранности единичных нервных волокон после передавливания. Для решения этого вопроса необходимы дальнейшие исследования, выполненные на более ранних сроках после операции (повреждения нерва и трансплантации МСК), в период WD.

В настоящее время вопрос о влиянии клеточной терапии на процессы WD, развивающейся в поврежденном нерве реципиента, не решен и исследования в этом направлении не проводятся.

Важную роль в WD играют макрофаги. Из мигрирующих из кровотока моноцитов дифференцируются провоспалительные макрофаги (M1, CD68⁺), которые впоследствии приобретают новый фенотип и становятся противовоспалительными (M2, CD206⁺) (Murray et al., 2014; Ehmedah et al., 2020). Макрофаги M1, экспрессирующие TNF- α , IL-1 β , IL-6 и другие провоспалительные белки, необходимы для дальнейшей регенерации нерва. Одна из их функций состоит в обеспечении стерильного воспаления (Kalinski et al., 2020). При нарушении гематоневрального барьера наряду с моноцитами в эндоневрий попадают гранулоциты, которые вскоре подвергаются апоптозу и фагоцитируются макрофагами (Kalinski et al., 2020). Однако в литературе описаны данные о том, что нейтрофилы, мигрирующие из кровотока в поврежденный нерв, могут принимать участие в фагоцитозе продуктов распада миелина наряду с макрофагами (Niemi et al., 2020).

Переход M1 в M2 происходит на третьи сутки после травмы нерва. M2-тип участвует в подавлении реакции воспаления и доминирует в нерве через 7–14 сут после травмы. Он характеризуется экспрессией IL-10 (Mietto et al., 2015), IL-6, TNF- β . Считают, что регуляцию функций макрофагов осуществляют ШК (Stratton, Shah, 2016), однако молекулярные механизмы этих взаимодействий недостаточно изучены.

На разных экспериментальных моделях показано, что экзогенные МСК способны подавлять воспалительную реакцию в поврежденных тканях. На модели острого респираторного дистресс-синдрома у мышей установлено, что введение МСК влияет на поляризацию макрофагов. МСК индуцируют фенотип макрофагов, у которых наблюдают ингибирование воспалительных цитокинов, повышение фагоцитарной способности, увеличение экспрессии CD206 (Morrison et al., 2017). Установлено, что механизмы влияния МСК на переход M1 в M2 разнообразны: через цитоплазматические нанотрубки, путем транспорта микровезикул и вследствие клеточного слияния (Murray, Krasnodembskaya, 2019).

В случае повреждения нерва вопрос о влиянии экзогенных МСК на макрофагальную реакцию неясен. Можно допустить, что клеточная терапия приведет к иным последствиям в отношении по-

ляризации макрофагов, по сравнению с описанной моделью, поскольку популяция макрофагов периферических нервов считается уникальной. Эта популяция сформирована под влиянием особого микроокружения и обладает только ей свойственной функцией: фагоцитировать продукты распада миелина (Ehmedah et al., 2020).

Дискуссионным остается вопрос о том, есть ли необходимость снижать воспалительную реакцию в травмированном нерве для улучшения его восстановления. Если травма нерва незначительна и не приводит к деструкции нервных волокон и к развитию WD – первая степень повреждения (Sunderland, 1990), – применение МСК может способствовать сохранности миелиновых оболочек, ингибируя фагоцитарную реакцию макрофагов. В случае же возникновения WD экзогенные МСК могут повлиять на миграцию макрофагов и вызвать задержку утилизации продуктов распада миелина, которая, как отмечалось ранее, составляет необходимый процесс для нормального роста регенерирующих аксонов и их ремиелинизации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей статье рассмотрена проблема применения клеточных технологий для восстановления поврежденных периферических нервов. Сравнительный анализ трансплантации в поврежденный нерв стволовых клеток разного генеза (МСК и НСПК) показал, что они по-разному влияют на репаративные процессы, развивающиеся в дистальном сегменте нерва после травмы, в том числе на васкуляризацию, регенерацию аксонов и структуру соединительнотканых внешних оболочек. Для понимания причин выявленных различий, а также для выяснения механизмов влияния клеточной терапии на регенерацию нерва реципиента необходимо изучение воздействия экзогенных клеток на процессы WD, происходящие в нерве в ранние сроки после повреждения. Проведенный анализ позволяет сделать предположение о том, что клеточная терапия с применением МСК может быть эффективным способом стимуляции регенерации нерва только в том случае, если травма нерва не приводит к разрушению аксона и развитию WD в дистальном сегменте поврежденного нерва. Присутствие экзогенных МСК, модулирующих воспалительный процесс, может привести к нарушению каскада реакций, происходящих в период WD, и тем самым способствовать задержке регенерации. Для выяснения молекулярных механизмов, регулирующих дегенеративные и репаративные процессы в поврежденном нерве, необходимы дальнейшие фундаментальные исследования. Экспериментальная клеточная терапия с применением СК, выступая в качестве модели изучения участвующих в восстановлении нерва клеток (нейролеммоцитов, макрофагов, эндоневральных фибробластов и др.), дает возможность исследовать клеточные взаимодействия и механизмы их регуляции.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа финансировалась из средств государственного задания Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Институт экспериментальной медицины”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор информирует об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеева О.С., Гусельникова В.В., Безнин П.М., Коржевский Д.Э.* Перспективы использования ядерного белка NeuN в качестве показателя функционального состояния нервных клеток у позвоночных // Журн. эвол. биохим. физиол. 2015. Т. 51. № 5. С. 313–323.
- Арсентьева Е.В., Полякова Д.И.* Нейрорегенерация и нейропротекция: перспективы клинического применения факторов роста и других биоактивных веществ // Мед. альянс. 2021. Т. 9. № 1. С. 82–90.
- Арутюнян И.В., Фатхудинов Т., Ельчанинов А.В. и др.* Исследование механизмов терапевтической активности аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток пупочного канатика в модели ишемии задних конечностей крыс // Гены и клетки. 2018. Т. 13. № 1. С. 82–89.
- Богов А.А., Галлямов А.Р., Данилов В.И. и др.* Сравнительный анализ применения клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани и генно-терапевтической плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2 при экспериментальной аутонервной вставке седалищного нерва крысы // Политравма. 2021. № 2. С. 103–108.
<https://doi.org/10.24412/1819-1495-2021-2-103-108>
- Дойников Б.С.* Избранные труды по нейроморфологии и невропатологии. М.: Медгиз, 1955. 468 с.
- Киселевский М.В., Власенко Р.Я., Степанян Н.Г. и др.* Секретом мезенхимных стволовых клеток костного мозга: иммуносупрессивный или провоспалительный? // Клет. технол. биол. мед. 2021. № 3. С. 171–175.
- Масгутов Р.Ф., Масгутова Г.А., Мухаметова Л.Р. и др.* Результаты сравнительной оценки эффективности применения плазмидной конструкции pBUD-VEGF165-FGF2 в моделях аутонервной пластики дефекта седалищного нерва и тубуляции коллагеновой трубкой NeuraGen® // Гены и клетки. 2020. Т. 15. № 4. С. 61–65.
<https://doi.org/10.23868/202012010>
- Ноздрачев А.Д., Чумасов Е.И.* Периферическая нервная система. СПб.: Наука, 1999. 281 с.
- Нишит А.Ю., Фомин Н.Ф., Орлов В.П.* Топографо-анатомические и нейрохирургические аспекты восстановления периферических нервов по типу “копец-в-бок” // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2021. № 1 (73). С. 121–128.
- Петрова Е.С.* Применение стволовых клеток для стимуляции регенерации поврежденного нерва // Цитология. 2012. № 7. С. 525–540.
- Петрова Е.С.* Поиск способов стимуляции регенерации поврежденного нерва с помощью новых клеточных технологий // Мед. акад. журн. 2015. Т. 15. № 4. С. 7–19.
- Петрова Е.С., Колос Е.А., Исаева Е.Н.* Трансплантация в поврежденный нерв крысы диссоциированных клеток эмбрионального спинного мозга и МСК (сравнительное исследование) // Вопросы морфологии XXI века. Выпуск 6 / Ред. И.А. Одинцова, С.В. Костюкевич. СПб.: Изд-во ДЕАН, 2021. С. 127–130.
- Попова Н.К., Ильчибаева Т.В., Науменко В.С.* Нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) и серотонинергическая система мозга // Биохимия. 2017. Т. 82. № 3. С. 449–459.
- Пронина Е.А., Масляков В.В., Степанова Т.В. и др.* Анализ механизмов регенерации при аутотрансплантации // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2019. Т. 27. № 3. С. 393–406.
<https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2019273393-406>
- Ревизиц А.В., Павлова Г.В., Охотин В.Е., Яковлева К.А.* Клеточная терапия при нейродегенеративных заболеваниях. М.: МПГУ, 2017. 160 с.
- Сотников О.С.* Функциональная морфология живого мягкотного нервного волокна. Л.: Наука, 1976. 99 с.
- Тутуров А.О., Пятин В.Ф., Сергеев С.М.* Перспективы развития технологий восстановления протяженных дефектов нервов с помощью кондуитов // Политравма. 2019. № 2. С. 95–101.
- Чаплыгина А.В., Жданова Д.Ю., Ковалев В.И. и др.* Клеточная терапия как способ коррекции нарушений нейрогенеза во взрослом мозге в модели болезни Альцгеймера // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2022. Т. 108. № 1. С. 59–84.
- Чельшев Ю.А., Богов А.А.* Экспериментальное обоснование применения кондуитов нерва // Неврол. вестн. 2008. Т. 40. № 4. С. 101–109.
- Щаницын И.Н., Иванов А.Н., Бажанов С.П. и др.* Стимуляция регенерации периферического нерва: современное состояние, проблемы и перспективы // Успехи физиол. наук. 2017. Т. 48. № 3. С. 92–112.
- Щедренко В.В., Гуманенко Е.К., Кирьянова В.В. и др.* Принципы ранней хирургической реабилитации нейротравмы // Вестн. хирург. им. И.И. Грекова. 2013. Т. 172. № 5. С. 51–55.
- Alvarez-Buylla A., Lim D.A.* For the long run: maintaining germinal niches in the adult brain // Neuron. 2004. V. 41. № 5. P. 683–686.
- Anderson J., Patel M., Forenzo D. et al.* A novel mouse model for the study of endogenous neural stem and progenitor cells after traumatic brain injury // Exp. Neurol. 2020. V. 325. P. 113119.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.113119>
- Asano K., Nakano T., Tokutake K. et al.* Muscle spindle reinnervation using transplanted embryonic dorsal root ganglion cells after peripheral nerve transection in rats // Cell Prolif. 2019. V. 52. № 5. P. e12660.
<https://doi.org/10.1111/cpr.12660>
- Baez-Jurado E., Hidalgo-Lanussa O., Barrera-Bailón B. et al.* Secretome of mesenchymal stem cells and its potential protective effects on brain pathologies // Mol. Neurobiol. 2019. V. 56. № 10. P. 6902–6927.
<https://doi.org/10.1007/s12035-019-1570-x>

- Basalova N., Sagaradze G., Arbatskiy M. et al.* Secretome of mesenchymal stromal cells prevents myofibroblasts differentiation by transferring fibrosis-associated microRNAs within extracellular vesicles // *Cells*. 2020. V. 9. № 5. P. 1272. <https://doi.org/10.3390/cells9051272>
- Boldyreva M.A., Bondar I.V., Stafeev I.S. et al.* Plasmid-based gene therapy with hepatocyte growth factor stimulates peripheral nerve regeneration after traumatic injury // *Biomed. Pharmacother.* 2018. № 101. P. 682–690.
- Busuttill F., Rahim A.A., Phillips J.B.* Combining gene and stem cell therapy for peripheral nerve tissue engineering // *Stem Cells Dev.* 2017. V. 26. № 4. P. 231–238.
- Chinnadurai R., Rajan D., Qayed M. et al.* Potency analysis of mesenchymal stromal cells using a combinatorial assay matrix approach // *Cell Rep.* 2018. V. 22. № 9. P. 2504–2517.
- Cofano F., Boido M., Monticelli M. et al.* Mesenchymal stem cells for spinal cord injury: current options, limitations, and future of cell therapy // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 2698. <https://doi.org/10.3390/ijms20112698>
- De Gioia R., Biella F., Citterio G. et al.* Neural stem cell transplantation for neurodegenerative diseases // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 9. P. 3103. <https://doi.org/10.3390/ijms21093103>
- De Miguel Z., Houry N., Betley M.J. et al.* Exercise plasma boosts memory and dampens brain inflammation via clusterin // *Nature*. 2021. V. 600. № 7889. P. 494–499. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04183-x>
- Dezawa M.* Muse cells provide the pluripotency of mesenchymal stem cells: direct contribution of Muse cells to tissue regeneration // *Cell Transplant.* 2016. V. 25. № 5. P. 849–861. <https://doi.org/10.3727/096368916X690881>
- Dezawa M., Takahashi I., Esaki M. et al.* Sciatic nerve regeneration in rats induced by transplantation of *in vitro* differentiated bone-marrow stromal cells // *Eur. J. Neurosci.* 2001. V. 14. P. 1771–1776.
- Dezawa M., Niizuma K., Tominaga T.* Actualization of neural regenerative medicine by intravenous drip of donor-derived Muse cells // *Brain Nerve*. 2019. V. 71. № 8. P. 895–900. <https://doi.org/10.11477/mf.1416201372>
- Ehmedah A., Nedeljkovic P., Dacic S. et al.* Vitamin B complex treatment attenuates local inflammation after peripheral nerve injury // *Molecules*. 2019. V. 24. P. 4615. <https://doi.org/10.3390/molecules24244615>
- Ehmedah A., Nedeljkovic P., Dacic S. et al.* Effect of vitamin B complex treatment on macrophages to Schwann cells association during neuroinflammation after peripheral nerve injury // *Molecules*. 2020. V. 25. № 22. P. 5426. <https://doi.org/10.3390/molecules25225426>
- Erb D.E., Mora R.J., Bunge R.P.* Reinnervation of adult rat gastrocnemius muscle by embryonic motoneurons transplanted into the axotomized tibial nerve // *Exp. Neurol.* 1993. V. 124. P. 372–376.
- Finkel Z., Esteban F., Rodriguez B. et al.* Diversity of adult neural stem and progenitor cells in physiology and disease // *Cells*. 2021. V. 10. P. 2045. <https://doi.org/10.3390/cells10082045>
- Franchi S., Valsecchi A.E., Borsani E. et al.* Intravenous neural stem cells abolish nociceptive hypersensitivity and trigger nerve regeneration in experimental neuropathy // *Pain*. 2012. V. 153. P. 850–861.
- Gärtner A., Pereira T., Armada-da-Silva P. et al.* Effects of umbilical cord tissue mesenchymal stem cells (UCX[®]) on rat sciatic nerve regeneration after neurotmesis injuries // *J. Stem Cells Regen. Med.* 2014. V. 10. № 1. P. 14–26. <https://doi.org/10.46582/jsrm.1001004>
- Gomazkov O.A.* Neurotrophins: the therapeutic potential and concept of minipeptides // *Neurochem. J.* 2012. T. 6. № 3. C. 163–172.
- Grinsell D., Keating C.P.* Peripheral nerve reconstruction after injury: a review of clinical and experimental therapies // *BioMed. Res. Int.* 2014. V. 2014. P. 698256. <https://doi.org/10.1155/2014/698256>
- Gu S., Shen Y., Xu W. et al.* Application of fetal neural stem cells transplantation in delaying denervated muscle atrophy in rats with peripheral nerve injury // *Microsurgery*. 2010. V. 30. P. 266–274.
- Haque A., Banik N.L., Ray S.K.* Molecular alterations in glioblastoma: potential targets for immunotherapy // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2011. V. 98. P. 187–234. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385506-0.00005-3>
- Idrisova K.F., Zeinalova A.K., Masgutova G.A. et al.* Application of neurotrophic and proangiogenic factors as therapy after peripheral nervous system injury // *Neural Regen. Res.* 2022. V. 17. № 6. P. 1240–1247. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.327329>
- Jessen K.R., Mirsky R.* The repair Schwann cell and its function in regenerating nerves // *J. Physiol.* 2016. V. 594. № 13. P. 3521–3531.
- Jonsson S., Wiberg R., McGrath A.M. et al.* Effect of delayed peripheral nerve repair on nerve regeneration, Schwann cell function and target muscle recovery // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 2. P. e56484. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056484>
- Kajitani T., Endo T., Iwabuchi N. et al.* Association of intravenous administration of human Muse cells with deficit amelioration in a rat model of spinal cord injury // *J. Neurosurg. Spine*. 2021. V. 34. № 4. P. 648–655. <https://doi.org/10.3171/2020.7.SPINE20293>
- Kalinina N.I., Syssoeva V.Y., Rubina K.A. et al.* Mesenchymal stem cells in tissue growth and repair // *Acta Naturae*. 2011. V. 3. № 4. P. 30–37.
- Kalinski A.L., Yoon C., Huffman L.D. et al.* Analysis of the immune response to sciatic nerve injury identifies efferocytosis as a key mechanism of nerve debridement // *Elife*. 2020. V. 9. P. e60223. <https://doi.org/10.7554/eLife.60223>
- Kemp S.W., Walsh S.K., Midha R.* Growth factor and stem cell enhanced conduits in peripheral nerve regeneration and repair // *Neurol. Res.* 2008. V. 30. № 10. P. 1030–1038.
- Kerns J.M., Walter J.S., Patetta M.J. et al.* Histological assessment of wallerian degeneration of the rat tibial nerve following crush and transection injuries // *J. Reconstr. Microsurg.* 2021. V. 37. № 5. P. 391–404.
- Kubiak C.A., Grochmal J., Kung T.A. et al.* Stem-cell-based therapies to enhance peripheral nerve regeneration // *Muscle Nerve*. 2020. V. 61. № 4. P. 449–459. <https://doi.org/10.1002/mus.26760>
- Kuroda Y., Kitada M., Wakao S. et al.* Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations // *PNAS USA*. 2010. V. 107. № 19. P. 8639–8643.
- Kuroda Y., Kitada M., Wakao S., Dezawa M.* Bone marrow mesenchymal cells: how do they contribute to tissue repair and are they really stem cells? // *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2011. V. 59. № 5. P. 369–378.
- Kuroda Y., Wakao S., Kitada M. et al.* Isolation, culture and evaluation of multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells // *Nat. Protoc.* 2013. V. 8. № 7. P. 1391–1415.

- Lavorato A., Raimondo S., Boido M. et al. Mesenchymal stem cell treatment perspectives in peripheral nerve regeneration: systematic review // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 2. P. 572.
<https://doi.org/10.3390/ijms22020572>
- Lee H.L., Oh J., Yun Y. et al. Vascular endothelial growth factor-expressing neural stem cell for the treatment of neuropathic pain // *Neuroreport.* 2015. V. 26. № 7. P. 399–404.
<https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000359>
- Lee H.L., Lee H.Y., Yun Y. et al. Hypoxia-specific, VEGF-expressing neural stem cell therapy for safe and effective treatment of neuropathic pain // *J. Control. Release.* 2016. V. 226. P. 21–34.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.01.047>
- Lovati A.B., D'Arrigo D., Odella S. et al. Nerve repair using decellularized nerve grafts in rat models. A review of the literature // *Front. Cell. Neurosci.* 2018. V. 12. P. 427.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00427>
- Lu W., Li J.P., Jiang Z.D. et al. Effects of targeted muscle reinnervation on spinal cord motor neurons in rats following tibial nerve transection // *Neural Regen. Res.* 2022. V. 17. № 8. P. 1827–1832.
- Masgutov R., Masgutova G., Mullakhmetova A. et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells applied in fibrin glue stimulate peripheral nerve regeneration // *Front. Med. (Lausanne).* 2019. V. 6. P. 68.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00068>
- Mathot F., Shin A.Y., van Wijnen A.J. Targeted stimulation of MSCs in peripheral nerve repair // *Gene.* 2019. V. 710. P. 17–23.
- McGonigal R., Campbell C.I., Barrie J.A. et al. Schwann cell nodal membrane disruption triggers bystander axonal degeneration in a Guillain-Barré syndrome mouse model // *J. Clin. Invest.* 2022. V. 132 (14). P. e158524.
<https://doi.org/10.1172/JCI158524>
- Mukhamedshina Y., Shulman I., Ogurcov S. et al. Mesenchymal stem cell therapy for spinal cord contusion: a comparative study on small and large animal models // *Biomolecules.* 2019. V. 9. № 12. P. 811.
<https://doi.org/10.3390/biom9120811>
- Mietto D.S., Kroner A., Girolami E.I. et al. Role of IL-10 in resolution of inflammation and functional recovery after peripheral nerve injury // *J. Neurosci.* 2015. V. 35. № 50. P. 16431–16442.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2119-15.2015>
- Morrison T.J., Jackson M.V., Cunningham E.K. et al. Mesenchymal stromal cells modulate macrophages in clinically relevant lung injury models by extracellular vesicle mitochondrial transfer // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017. V. 196. № 10. P. 1275–1286.
- Murray L.M.A., Krasnodembskaya A.D. Concise review: intercellular communication via organelle transfer in the biology and therapeutic applications of stem cells // *Stem Cells.* 2019. V. 37. № 1. P. 14–25.
<https://doi.org/10.1002/stem.2922>
- Murray P.J., Allen J.E., Biswas S.K. et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines // *Immunity.* 2014. V. 41. P. 14–20.
- Namestnikova D.D., Cherkashova E.A., Sukhinich K.K. et al. Combined cell therapy in the treatment of neurological disorders // *Biomedicines.* 2020. T. 8. № 12. P. 613.
- Niemi J.P., Lindborg J.A., Zigmund R.E. Detection of neutrophils in the sciatic nerve following peripheral nerve injury // *Meth. Mol. Biol.* 2020. № 2143. P. 207–222.
- Oh J.S., An S.S., Gwak S.J. et al. Hypoxia-specific VEGF-expressing neural stem cells in spinal cord injury model // *Neuroreport.* 2012. V. 23. № 3. P. 174–178.
<https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e32834f4f3a>
- Pan J., Zhao M., Yi X. et al. Acellular nerve grafts supplemented with induced pluripotent stem cell-derived exosomes promote peripheral nerve reconstruction and motor function recovery // *Bioact. Mater.* 2021. V. 15. P. 272–287.
- Parker B.J., Rhodes D.I., O'Brien C.M. et al. Nerve guidance conduit development for primary treatment of peripheral nerve transection injuries: a commercial perspective // *Acta Biomater.* 2021. V. 135. P. 64–86.
- Payushina O.V., Tsomartova D.A., Chereshneva E.V. et al. Menstrual blood-derived mesenchymal stromal cells as a resource for regenerative medicine // *Biol. Bull. Rev.* 2022. V. 12. P. 41–48.
<https://doi.org/10.1134/S2079086422010054>
- Petrova E.S. Differentiation potential of mesenchymal stem cells and stimulation of nerve regeneration // *Rus. J. Dev. Biol.* 2018. V. 49. № 4. P. 193–205.
- Petrova E.S., Kolos E.A. Nerve fiber regeneration in the rat sciatic nerve after injury and administration of mesenchymal stem cells // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2021. V. 51. № 4. P. 513–518.
- Petrova E.S., Chumasov E.I., Otellin V.A. Morphological assessment of growth capacity of the central nervous system axons in a peripheral nerve // *Bull. Exp. Biol. Med.* 1998. V. 125. № 2. C. 205–208.
- Petrova E., Isaeva E., Kolos E., Korzhevskii D. Allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells in the epineurium and perineurium of the recipient rat // *Biol. Commun.* 2018a. V. 63. № 2. P. 123–132.
- Petrova E., Isaeva E., Kolos E., Korzhevskii D. Vascularization of the damaged nerve under the effect of experimental cell therapy // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018b. V. 165. № 1. P. 161–165.
- Petrova E., Kolos E., Korzhevskii D. Changes in the thickness of rat nerve sheaths after single subperineural administration of rat bone marrow mesenchymal stem cells // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021. V. 171. № 4. P. 547–552.
- Ramon y Cahal S. Degeneration and regeneration of the nervous system. V. 1–2. L.: Oxford Univ. Press, Humphrey Milford, 1928. 769 p.
- Resch A., Wolf S., Mann A. et al. Co-culturing human adipose derived stem cells and Schwann cells on spider silk – a new approach as prerequisite for enhanced nerve regeneration // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 20. P. 71.
- Rosell A., Neukomm L.J. Axon death signalling in Wallerian degeneration among species and in disease // *Open Biol.* 2019. V. 9. P. 190118.
<https://doi.org/10.1098/rsob.190118>
- Sanagi T., Yabe T., Yamada H. Gene transfer of PEDF attenuates ischemic brain damage in the rat middle cerebral artery occlusion model // *J. Neurochem.* 2008. V. 106 (4). P. 1841–1854.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05529.x>
- Sarker M., Saman N., McInnes A.D. et al. Regeneration of peripheral nerves by nerve guidance conduits: influence of design, biopolymers, cells, growth factors, and physical stimuli // *Prog. Neurobiol.* 2018. V. 171. P. 125–150.
- Sekiguchi H., Ii M., Jujo K. et al. Estradiol promotes neural stem cell differentiation into endothelial lineage and angiogenesis in injured peripheral nerve // *Angiogenesis.* 2013. V. 16. № 1. P. 45–58.
<https://doi.org/10.1007/s10456-012-9298-5>

- Siemionow M., Brzezicki G.* Chapter 8: Current techniques and concepts in peripheral nerve repair // *Int. Rev. Neurobiol.* 2009. V. 87. P. 141–172.
[https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(09\)87008-6](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(09)87008-6)
- Siemionow M., Strojny M.M., Kozłowska K. et al.* Application of human epineural conduit supported with human mesenchymal stem cells as a novel therapy for enhancement of nerve gap regeneration // *Stem Cell Rev. Rep.* 2022. V. 18. № 2. P. 642–659.
<https://doi.org/10.1007/s12015-021-10301-z>
- Stratton J.A., Shah P.T.* Macrophage polarization in nerve injury: do Schwann cells play a role? // *Neural Regen. Res.* 2016. V. 11. № 1. P. 53–57.
- Sukhinich K.K., Dashinimaev E.B., Vorotelyak E.A., Aleksandrova M.A.* Regenerative effects and development patterns of solid neural tissue grafts located in gelatin hydrogel conduit for treatment of peripheral nerve injury // *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* 2020a. T. 8. № 2. P. e2610.
<https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000002610>
- Sukhinich K.K., Namestnikova D.D., Gubskii I.L. et al.* Distribution and migration of human placental mesenchymal stromal cells in the brain of healthy rats after stereotaxic or intra-arterial transplantation // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020b. V. 168. № 4. P. 542–551.
- Sunderland S.* The anatomy and physiology of nerve injury // *Muscle Nerve.* 1990. V. 13. № 9. P. 771–784.
<https://doi.org/10.1002/mus.880130903>
- Takeuchi S., Tsuchiya A., Iwasawa T. et al.* Small extracellular vesicles derived from interferon- γ pre-conditioned mesenchymal stromal cells effectively treat liver fibrosis // *NPJ Regen. Med.* 2021. V. 6. № 1. P. 19.
<https://doi.org/10.1038/s41536-021-00132-4>
- Thomas C.K., Erb D.E., Grumbles R.M., Bunge R.P.* Embryonic cord transplants in peripheral nerve restore skeletal muscle function // *J. Neurophysiol.* 2000. V. 84. № 1. P. 591–595.
<https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.1.591>
- Tricaud N., Park H.T.* Wallerian demyelination: chronicle of a cellular cataclysm // *Cell. Mol. Life Sci.* 2017. V. 74. № 22. P. 4049–4057.
- Valentini R.F., Sabatini A.M., Dario P., Aebischer P.* Polymer electret guidance channels enhance peripheral nerve regeneration in mice // *Brain Res.* 1989. V. 480 (1–2). P. 300–304.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)90196-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)90196-0)
- Waller A.* New method for the study of the nervous system // *Lond. J. Med.* 1852. V. 4. № 43. P. 609–625.
- Wang C., Lu C.F., Peng J. et al.* Roles of neural stem cells in the repair of peripheral nerve injury // *Neural Regen. Res.* 2017. V. 12. P. 2106–2112.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.221171>
- Weiss D.J., English K., Krasnodembskaya A. et al.* The necrobiology of mesenchymal stromal cells affects therapeutic efficacy // *Front. Immunol.* 2019. V. 10. P. 1228.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01228>
- Wong K.M., Babetto E., Beirowski B.* Axon degeneration: make the Schwann cell great again // *Neural Regen. Res.* 2017. V. 12. № 4. P. 518–524.
- Xin D., Li T., Chu X. et al.* Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles modulate microglia/macrophage polarization and protect the brain against hypoxia-ischemic injury in neonatal mice by targeting delivery of miR-21a-5p // *Acta Biomater.* 2020. V. 113. P. 597–613.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.06.037>
- Xu Q., Zhang M., Liu J., Li W.* Intrathecal transplantation of neural stem cells appears to alleviate neuropathic pain in rats through release of GDNF // *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2013. V. 43. P. 154–162.
- Yamada Y., Minatoguchi S., Baba S. et al.* Human Muse cells reduce myocardial infarct size and improve cardiac function without causing arrhythmias in a swine model of acute myocardial infarction // *PLoS One.* 2022. V. 17. № 3. P. e0265347.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265347>
- Yarygin K.N., Lupatov A.Y., Sukhikh G.T.* Modulation of immune responses by mesenchymal stromal cells // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. V. 161. № 4. P. 561–565.
- Zigmond R.E., Echevarria F.D.* Macrophage biology in the peripheral nervous system after injury // *Prog. Neurobiol.* 2019. V. 173. P. 102–121.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.12.001>

Cell Technologies in Experimental Therapy of Nerve Injuries (Analytical Review)

E. S. Petrova*

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

*e-mail: iempes@yandex.ru

This review is devoted to the actual problem of the damaged nerves repair using stem cells. An analysis of our own data and literature data on the development of mesenchymal and neural stem cells under conditions of an altered microenvironment during transplantation into an injured nerve of laboratory animals is presented in this work. A comparison of the regenerative potencies of transplanted cells and an assessment of their effect on reparative processes in the recipient's nerve were carried out. The revealed differences in the effect of stem cells of different origin on the regenerating nerve suggested that cell therapy affects the processes of Wallerian degeneration on the early stages after nerve injury. It has been concluded about the need for extensive fundamental research on the molecular regulation of Wallerian degeneration processes and its changes under the influence of exogenous stem cells.

Keywords: nerve regeneration, neural stem/progenitor cells, mesenchymal stem cells, transplantation