

УДК 616.858

DOI: 10.22141/2224-0713.4.90.2017.107268

Юркевич М.Ю.¹, Зафранская М.М.¹, Пономарев В.В.¹, Бойко А.В.¹, Алейникова Н.Е.²¹ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск,

Республика Беларусь

²УЗ «5-я городская клиническая больница», г. Минск, Республика Беларусь

Клеточная терапия болезни Паркинсона: достижения и перспективы

Резюме. Обзор литературы посвящен основным направлениям, проблемам и перспективам использования клеточной терапии при болезни Паркинсона. В течение последних десятилетий проведены многочисленные экспериментальные и клинические исследования, основанные на использовании в терапии паркинсонизма дофамин-секретирующих клеток (клетки мозгового слоя надпочечников и сонного гломуса), клеток фетального мезенцефалона, генетически модифицированных клеток, а также стволовых клеток различного происхождения, в том числе эмбриональных, мезенхимальных, нейрональных и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Несмотря на значительный прогресс в данной области, для практического внедрения представленных подходов необходимо решить ряд вопросов, связанных с этическими и техническими факторами, достаточно высокой вариабельностью исходов клеточной терапии, наличием в ряде случаев побочных эффектов, риском онкотрансформации, необходимостью стандартизации протоколов направленной нейрогенной дифференцировки.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; клеточная терапия; дофамин-секретирующие клетки; стволовые клетки; генетически модифицированные клетки; обзор

Болезнь Паркинсона является хроническим неуклонно прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием, приводящим к выраженным двигательным нарушениям, социально-бытовой дезадаптации и снижению качества жизни пациентов. Встречаемость данной патологии составляет 72–259 человек на 100 000 населения и значительно увеличивается с возрастом (950–1700 человек на 100 000 населения) [1].

Достижения клинической и экспериментальной медицины последних лет позволили выяснить механизмы развития болезни Паркинсона, разработать диагностические критерии и усовершенствовать терапевтические подходы. Патофизиологической основой заболевания является отложение внутрицитоплазматических белков (телец Леви) и селективная гибель дофаминергических нейронов черной субстанции мозга, вызванная нейрохимическим дисбалансом (нарушение метаболизма дофамина, серотонина и глутамата, образование вторич-

ных эндотоксинов), нейровоспалением, окислительным стрессом и/или митохондриальной дисфункцией [2, 3].

Терапия болезни Паркинсона основана на коррекции возникающего дисбаланса дофаминергической системы за счет повышения синтеза дофамина и снижения уровня его катаболизма (леводопа), стимуляции дофаминергических рецепторов (прамипексол и др.), модуляции активности глутаматергической и ацетилхолинергической медиаторных систем (амантадин и его аналоги) [1, 4]. При этом представленные терапевтические подходы позволяют уменьшить основные симптомы заболевания, не предотвращая процессы нейродегенерации и, соответственно, не влияя на прогрессирование болезни Паркинсона. Кроме того, данные лекарственные средства обладают широким спектром побочных действий и высокой вероятностью развития феномена истощения дозы. Используемые в терапии болезни Паркинсона хирургические методы (стереотаксическое

разрушение вентролатерального ядра зрительного бугра и других подкорковых структур) оказывают непродолжительный положительный эффект и отличаются высокой вероятностью последующего ухудшения [5].

Представленные данные свидетельствуют о необходимости поиска новых стратегий патогенетической терапии паркинсонизма, основанных на клеточном замещении, введении нейротрофических агентов и/или снижении степени выраженности нейровоспаления. В связи с этим наиболее значимыми являются подходы, основанные на клеточных технологиях.

В настоящее время в качестве потенциальных областей клинического применения клеточных технологий рассматриваются терапия болезни Альцгеймера, лечение амиотрофического латерального склероза, рассеянного склероза [6]. При этом учитывается, что патогенез болезни Паркинсона связан с потерей единственного типа клеток, локализованных в ограниченной анато-

мической структуре (дофаминергические нейроны компактной части черного вещества головного мозга). Данная патология является более адекватной мишенью для клеточной терапии, чем подавляющее большинство других нейродегенеративных заболеваний.

В многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях терапии болезни Паркинсона применяют клетки разного происхождения, включая дофамин-секретирующие клетки, клетки фетального головного мозга, стволовые клетки различного происхождения (рис. 1) и др.

Дофамин-секретирующие клетки различного происхождения

Перспективным направлением терапии болезни Паркинсона является заместительная клеточная терапия, основанная на трансплантации дофамин-секретирующих клеток (клетки мозгового слоя надпочечников,

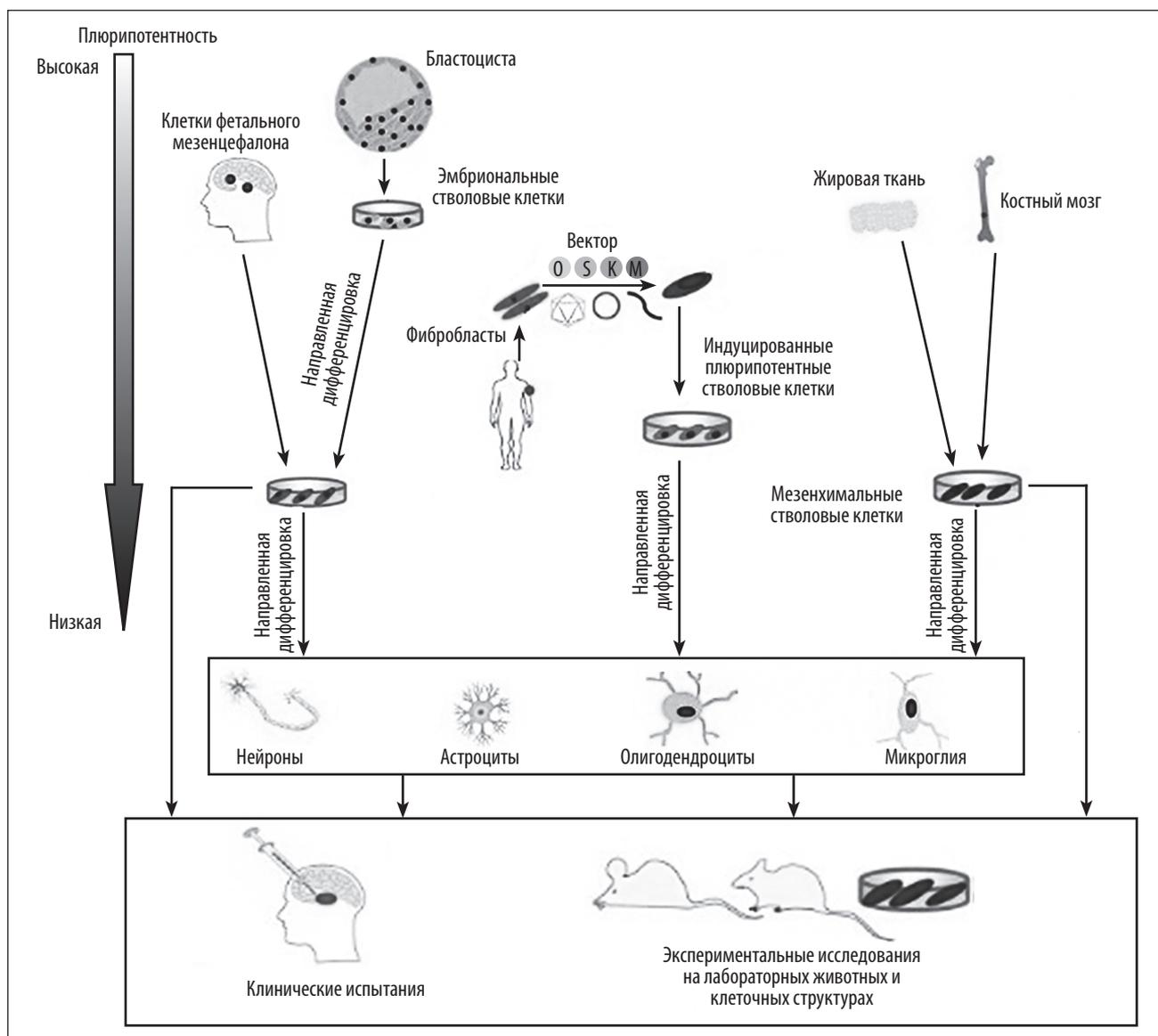


Рисунок 1. Возможности терапии болезни Паркинсона с использованием стволовых клеток различного происхождения

сонного гломуса) или полноценных по своим морфо-функциональным характеристикам дофаминергических нейронов (клетки среднего мозга эмбрионов).

Первые успешные клинические исследования клеточной терапии болезни Паркинсона были проведены в 1980-х годах с использованием аутологичных хромоафинных клеток мозгового слоя надпочечников [7, 8]. Данные клетки способны активно секретировать дофамин, нейропептиды (нейротензин, энкефалины и др.), ростовые факторы (фактор роста фибробластов β , трансформирующий ростовой фактор и др.), катехоламины, оказывающие нейротрофическое действие и стимулирующие собственные дофаминергические нейроны пациентов [9]. Дальнейшие экспериментальные и клинические исследования оказались противоречивыми: в ряде случаев наблюдалась положительная динамика [10, 11], но во многих работах отмечалась минимальная выживаемость вводимых клеток и отсутствие клинического улучшения [12].

При исследовании отдаленных последствий нейротрансплантации установлено, что *in vivo* клетки мозгового слоя надпочечников выживают и оказывают положительный терапевтический эффект только в первые годы после проводимой терапии (от 1 до 4 лет), в последующем наблюдается нарастание признаков нейровоспаления и прогрессирование заболевания [13]. Для повышения клеточной выживаемости было предложено проведение совместной трансплантации клеток мозгового слоя надпочечников с сегментом периферического нерва, клетки которого являются источником ряда ростовых факторов, в первую очередь фактора роста нервов [11, 14, 15]. Клинические испытания данного метода показали не только выживание трансплантированных клеток в головном мозге пациентов с паркинсонизмом, но и формирование вокруг них сети дофаминергических волокон [15].

Данные о низком содержании катехоламинов и других нейропептидов в аутопсином материале мозгового слоя надпочечников пациентов с болезнью Паркинсона привели к разработке принципов и методологии ксенотрансплантации хромоафинных клеток [16].

Еще одним материалом для клеточной терапии являются клетки сонного гломуса (каротидная железа) [17, 18], которые способны синтезировать и высвобождать дофамин и ряд нейротрофических факторов (нейротрофический фактор глиальных клеток, нейротрофин-3 и др.) [19]. Проведенное в 2007 году клиническое испытание (I и II фазы) не выявило побочных эффектов стереотаксической трансплантации гломусных клеток в стриатум пациентов с болезнью Паркинсона. Клиническое улучшение в течение первого года наблюдалось у 83 % пациентов (10 из 12 пациентов) и сохранялось на протяжении 3 лет только в 50 % случаев (3 из 6 пациентов) [20].

Клетки фетального мезенцефалона

Заместительная клеточная терапия болезни Паркинсона основана также на использовании дофаминергических нейронов и их предшественников (нейро-

нальных стволовых клеток), выделенных из вентральной части мезенцефалона (среднего мозга) 6–9-недельных эмбрионов.

Первые клинические испытания, описывающие положительные результаты трансплантации клеток мезенцефалона при болезни Паркинсона, были проведены еще в 1990 г. [21], и до настоящего времени это направление активно изучается. Разработана программа европейских клинических испытаний TRANSEURO (www.transeuro.org.uk), задачи которой заключаются в изучении механизма нейропротекторного действия фетальных клеток, разработке критериев отбора пациентов для проведения фетальной трансплантации, стандартизации метода получения клеток мезенцефалона, а также в организации и контроле за клиническими испытаниями в данной области.

Среди положительных эффектов нейротрансплантации выделяют реципрокную иннервацию и интеграцию фетальных нервных клеток с нейронами головного мозга пациента, активное формирование новых межнейрональных связей, возмещение трансплантированными клетками функционального дефекта, что проявляется восполнением дефицита ряда нейромедиаторов и повышением уровня дофамина в nigrostriatной системе. Однако после проведения трансплантации по результатам ряда исследований отмечается и существенная вариабельность клинического течения болезни Паркинсона (табл. 1). Установлено, что наиболее эффективным является проведение нейротрансплантации в более раннем возрасте и при незначительной продолжительности болезни. По данным Curt R. Freed и соавт. (2001), у 34 % пациентов в возрасте до 60 лет наблюдалось клиническое улучшение в течение первого года после трансплантации, тогда как у пациентов старше 60 лет значимые изменения выявлялись только в 18 % случаев [27].

При оценке отдаленных последствий фетальной нейротрансплантации показано, что улучшение состояния пациентов наблюдается на протяжении первых 10 [23, 24] и 14 [25] лет, что связано с интеграцией трансплантированных клеток с нейронами реципиента и активной продукцией ими дофамина. Впоследствии выявлялось нарастание симптоматики, накопление альфа-синуклеина в дофаминергических нейронах, снижение уровня экспрессии транспортера дофамина и развитие признаков нейровоспаления [23–25]. Кроме того, после введения клеток мезенцефалона у 15–50 % пациентов с болезнью Паркинсона наблюдалось развитие осложнения в виде трансплантат-индуцированных дискинезий (табл. 1). Развитие побочных эффектов связывают с вторичными анатомическими и функциональными изменениями базальных ганглиев пациентов, возникающими на фоне пониженного содержания дофамина и ряда нейромедиаторов (в первую очередь серотонина), а также при проведении длительной терапии леводопой [26]. Кроме того, существенную роль в развитии дискинезий могут играть неравномерная реиннервация сайта трансплантации, избыток высвобождаемого трансплантированными клетками

Таблица 1. Результаты клинических испытаний с использованием клеток мезенцефалона в терапии болезни Паркинсона

Кол-во пациентов	Время наблюдения	Клинические улучшения	Выживание трансплантированных клеток (ПЭТ)	Побочные эффекты (дискинезия)	Источник литературы
2	15–17 лет	2/2	Нет данных	Не выявлены	[21]
39	12 месяцев	13/39	Обнаружено	6/40	[22]
23	24 месяца	6/23	Обнаружено	13/23	[27]
7	6–7 месяцев	7/7	Нет данных	Не выявлены	[28]
6	10–72 месяца	4/6	Обнаружено	Не выявлены	[29]
5	18–24 месяца	2/5	Обнаружено	Не выявлены	[30]
2	8 лет	2/2	Обнаружено	1/1	[31]
33	2–4 года	15/33	Обнаружено	Нет данных	[32]

дофамина, наличие воспалительного процесса в других смежных областях головного мозга, а также невозможность формирования функциональных синаптических контактов [12].

К недостаткам фетальной нейротрансплантации также относятся техническая сложность выделения клеток, использование большого объема исходного эмбрионального материала, низкая выживаемость клеток и ряд морально-этических проблем. Согласно результатам экспериментальных и клинических исследований *in vivo*, выживают только 5–10 % трансплантированных фетальных дофаминергических нейронов [22]. При этом проведение иммуносупрессивной терапии не оказывало значимого влияния на жизнеспособность клеток и их нейропротекторное действие. Массовая гибель донорских клеток может быть спровоцирована несколькими факторами, среди которых рассматривают недостаточную трофическую поддержку, механическое повреждение в ходе проведения клеточной диссоциации, повреждение клеток свободными радикалами, неблагоприятное микроокружение (дефицит факторов роста) и т.д. [12].

Для повышения клеточной выживаемости F. Büchele и соавт. (2014) предложено проведение двухэтапного введения клеток мезенцефалона в течение двух дней с целью создания микроокружения для поддержания трансплантированных клеток [33]. Разработаны также протоколы проведения унилатеральной и билатеральной фетальной нейротрансплантации [27, 31], использующие как диссоциированные клетки мезенцефалона (клеточная суспензия), так и сам мезенцефалон в виде солидного трансплантата [34].

Эмбриональные стволовые клетки

Способность эмбриональных стволовых клеток (ЭСК, клетки внутренней массы эмбриона на поздней стадии бластоцисты) к неограниченному делению и дифференцировке во все типы клеток, включая нейрональные клетки-предшественники, позволяет рас-

сматривать их в качестве материала для заместительной клеточной терапии болезни Паркинсона.

Согласно данным экспериментальных исследований, микроокружение черной субстанции головного мозга пациентов способно направлять дифференцировку трансплантированных ЭСК в функциональные дофаминергические нейроны [35]. В то же время высокая пролиферативная активность недифференцированных ЭСК может привести к формированию в сайте трансплантации тератогенных опухолей. В связи с этим важной является разработка протоколов предтрансплантационной дифференцировки ЭСК в дофаминергические нейроны.

Существующие в настоящее время подходы к нейрональной дифференцировке ЭСК основываются на индукции экспрессии ключевых генов (ген тирозингидроксилазы, *Nurr1* и др.) [36], добавлении к культуре клеток ростовых/трофических факторов (эпидермальный фактор роста, фактора роста фибробластов, ноггин, аскорбиновая кислота, нейротрофический фактор головного мозга и др.) [37], проведении совместного культивирования ЭСК с клетками, способными индуцировать дифференцировку в дофаминергические нейроны (астроциты среднего мозга и др.), или кондиционированными средами от них [38]. В результате направленной дифференцировки ЭСК приобретают морфологию и фенотип дофаминергических нейронов и начинают экспрессировать маркеры синаптических контактов [36–38].

В настоящее время применение ЭСК в терапии болезни Паркинсона ограничено исключительно экспериментальными исследованиями. При этом результаты трансплантации ЭСК животным с моделью болезни Паркинсона отличаются широкой вариабельностью, что может быть связано с различными способами и дозами введения, использованием ЭСК человеческого происхождения, а также применением различных протоколов их нейрональной дифференцировки. Наряду с положительным эффектом ЭСК [39]

во многих экспериментальных работах отмечена их низкая выживаемость *in vivo* и отсутствие интеграции в структуры головного мозга, в результате чего трансплантированные клетки не оказывают влияния на синтез дофамина и не улучшают моторные функции животных [40].

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КОСТНОГО МОЗГА

Широкие возможности в терапии нейродегенеративных заболеваний имеет применение стволовых клеток костного мозга, что обусловлено доступностью биологического материала, возможностью трансплантации аутологичных клеток, отсутствием вероятности образования тератом, а также снятием множества этических вопросов, возникающих при использовании фетального материала.

Стволовые клетки костного мозга представлены самовозобновляющимися популяциями гемопоэтических (кроветворных, ГСК) и мезенхимальных (стромальных, МСК) стволовых клеток. На сегодняшний день основное внимание в аспекте терапии паркинсонизма уделяется МСК, поскольку использование ГСК ограничено отсутствием возможности их дифференцировки в нервные клетки, исключая клетки микроглии [41].

В экспериментальных исследованиях описано участие МСК в регенерации поврежденных структур головного мозга. Под влиянием факторов микроокружения трансплантированные МСК мигрируют и интегрируются в область повреждения, образуют многочисленные контакты с нейронами, приобретают нейрональный фенотип (экспрессия нестина, специфической енолазы, тирозингидроксилазы и т.д.) и функциональную активность дофаминергических нейронов [42, 43]. Кроме того, МСК могут оказывать непрямотрофическое действие, дифференцируясь *in vivo* в клетки микроглии, осуществляющие трофическую поддержку поврежденных тканей [43].

Активация процессов нейрогенеза может быть также обусловлена МСК-опосредованной стимуляцией нейрональных стволовых клеток субвентрикулярной зоны головного мозга, которые впоследствии мигрируют, пролиферируют, дифференцируются и замещают погибшие дофаминергические нейроны [44].

Терапевтический эффект МСК связывают не только с их регенеративными возможностями, но и со способностью продуцировать целый ряд нейротрофических факторов (фактор роста нервов, нейротрофин-3, фактор роста эндотелия сосудов и др.), поддерживающих структурную организацию как отдельных клеток головного мозга, так и нейрональную сеть в целом [43, 45, 46]. По данным Munoz и соавт. (2005), МСК способны самостоятельно синтезировать фактор роста нервов и нейротрофический фактор мозга, а также могут активировать астроциты, являющиеся основными продуцентами данных индукторов нейрогенеза *in situ* [45]. Являясь активными продуцентами эндотелиальных митогенов (эндотелиальный фактор роста, фактор роста эндотелия сосудов и др.), МСК опосредуют активацию процессов ангиогенеза [43]. Кроме того,

способность МСК секретировать элементы внеклеточного матрикса обуславливает их участие в образовании аксонов (нейритогенезе) и формировании межнейрональной сети [43].

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* описано антиапоптотическое действие МСК в отношении нейронов и олигодендроцитов, что повышает их выживаемость и устойчивость к нейродеструктивным процессам [44]. Согласно данным S.H. Oh и соавт. (2016), МСК способны ингибировать эндцитоз α -синуклеина за счет модуляции процессов его связывания с N-метил-D-аспарататными рецепторами. В результате такого действия α -синуклеин не передается по межнейрональной сети, не накапливается в дофаминергических нейронах и, соответственно, не приводит к их гибели [46].

Несмотря на то, что регенеративные возможности МСК являются определяющим фактором для их применения в терапии болезни Паркинсона, важное значение имеет и влияние МСК на вторичные цитотоксические процессы, протекающие как локально (в головном мозге), так и системно. В частности, прогрессирование болезни Паркинсона связано не только с нейродегенеративными процессами, но и с аутоиммунными механизмами, заключающимися в появлении аутореактивных клонов Т-лимфоцитов и специфических к альфа-синуклеину аутоантител [2]. В многочисленных исследованиях описана способность МСК супрессировать пролиферацию и функциональную активность иммунокомпетентных клеток, оказывать толерогенное и противовоспалительное действие [47]. Кроме того, МСК способны ингибировать нейротоксические процессы, связанные с гиперпродукцией оксида азота и активацией перекисного окисления липидов [2].

В настоящее время важным вопросом является эффективность нейрональной дифференцировки МСК *in situ*. Ряд экспериментальных работ свидетельствует о том, что введение МСК в область стриатума приводит к снижению степени выраженности моторной симптоматики паркинсонизма, однако количество клеток, которые приобрели *in situ* нейрональный фенотип, невелико [43]. В связи с этим были разработаны протоколы, позволяющие получить из МСК клетки, обладающие свойствами дофаминергических нейронов и/или их предшественников, экспрессирующие специфические маркеры и синтезирующие дофамин. Данные протоколы основаны на использовании технологий генной инженерии (модификация клеточного генома), воздействии эпигенетических факторов (метилирование ДНК, деацетилирование гистонов), а также культивировании МСК в присутствии специфических факторов или кондиционированных сред [43, 49]. Показано, что добавление к культурам МСК таких факторов, как ретиноевая кислота, фактор роста фибробластов β , эпидермальный фактор роста и др., активирует экспрессию генов, характерных для клеток нервной ткани [50]. Однако до сих пор не удалось найти эффективного фактора и/или комбинации факторов, способствующих нейрональной дифференцировке МСК.

На лабораторных животных с моделями болезни Паркинсона показан положительный терапевтический эффект как интактных, так и дифференцированных МСК, заключающийся в снижении моторной симптоматики, нормализации уровня дофамина и других нейромедиаторов, увеличении количества нейронов в поврежденной зоне, замедлении темпов развития заболевания [43, 50, 51]. Кроме того, в ходе экспериментальных исследований разработаны протоколы проведения унилатеральной/билатеральной эндолюмбальной или субокципитальной клеточной трансплантации [43, 50]. В качестве альтернативного метода предложено осуществление внутривенного введения МСК, что позволяет избежать проведения травматических хирургических вмешательств, при этом клетки сохраняют способность к миграции в область повреждения головного мозга и оказывают положительный эффект [51].

На основе экспериментальных данных активно разрабатываются подходы к практическому использованию МСК. Так, в Международной платформе для регистрации клинических испытаний Всемирной организации здравоохранения зарегистрировано два исследования в области использования МСК при болезни Паркинсона. Одно из них рассматривает аспекты аутологичной трансплантации, тогда как другое посвящено оценке эффективности введения аллогенных МСК.

Результаты пилотного исследования аутологичной трансплантации МСК были опубликованы N.K. Venkataramana и соавт. в 2010 г. В данном случае унилатеральное введение МСК осуществлялось в субвентрикулярную зону головного мозга пациентов в ходе проведения стереотаксической операции, побочных эффектов в виде опухолевой трансформации и дискинезий выявлено не было. При этом в течение всего периода наблюдения, составляющего 36 месяцев, клинические улучшения наблюдались только у троих из семи пациентов [53].

В.А. Яворской и соавт. (2006 г.) проведен анализ клинической эффективности субокципитальной и эндолюмбальной трансплантации МСК, индуцированных в нейральные клетки. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности применения МСК на более ранних стадиях болезни Паркинсона, а для достижения положительного эффекта в тяжелых случаях необходимо проведение повторных трансплантаций, по возможности субокципитально [50].

Стволовые клетки из прочих источников

Стволовые клетки, сходные по своим свойствам с МСК костного мозга, могут быть выделены из широкого спектра тканей, включая жировую ткань, пуповинную кровь, пульпу зуба, ткань скелетных мышц, хрящей, сухожилий и т.д. Наличие нейрогенного потенциала подтверждено для нескольких популяций клеток органов и тканей, включая стволовые клетки жировой ткани, пуповинной крови, скелетных мышц и суставных хрящей [43]. Однако исследования на экспериментальных моделях болезни Паркинсона проведены толь-

ко для стволовых клеток пуповинной крови и жировой ткани, при этом эффективность их трансплантации не уступала МСК костного мозга [51].

Согласно данным Н.Е. Моон и соавт. (2013), стволовые клетки, полученные из жировой ткани пациентов с болезнью Паркинсона, имеют сниженную активность митохондриальных комплексов, характерную также для дофаминергических нейронов и рассматривающуюся в качестве одного из механизмов нейрональной деструкции [54]. Полученные результаты ограничивают использование аутологичных стволовых клеток жировой ткани в терапии болезни Паркинсона, а также свидетельствуют о важности изучения функционального состояния клеток пациентов, выделенных из других источников (в первую очередь МСК костного мозга).

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки

Для повышения эффективности клеточной терапии болезни Паркинсона в настоящее время активно исследуются возможности применения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Данные клетки получают из соматических клеток пациента (например, фибробластов кожи), которые подвергают генетической модификации при помощи конструкций, содержащих кодирующие клеточную плюрипотентность гены: Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4 и др. В результате клетки приобретают свойства, схожие с эмбриональными стволовыми клетками [43, 55].

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки могут быть эффективно дифференцированы *in vitro* в зрелые дофаминергические нейроны, которые после трансплантации лабораторным животным с болезнью Паркинсона способны мигрировать в структуры головного мозга, формировать межнейронные связи и дифференцироваться в глиальные и нейрональные (дофаминергические и серотонинергические) клетки [55]. Кроме того, наблюдается отчетливое улучшение двигательных функций и редукция симптоматики паркинсонизма [55, 56].

В настоящее время возможность применения дофаминергических нейронов, получаемых из репрограммированных соматических клеток, в терапии болезни Паркинсона показана только в эксперименте. Для практического внедрения данного подхода необходимо решить ряд вопросов, связанных с риском онкотрансформации и стандартизацией протоколов направленной нейрогенной дифференцировки.

Генетически модифицированные клетки

Новым этапом в лечении болезни Паркинсона является использование генно-клеточной терапии, заключающейся в трансплантации клеток различной природы (стволовых клеток, фибробластов, дофаминергических нейронов и т.д.), в которые предварительно внесены функциональные гены ростовых (нейротрофических) факторов или гены ферментов синтеза нейромедиаторов. Генетическая модификация осуществляется с использованием аденовирусных

векторов, в ходе химической трансфекции (например, применение липосомальных комплексов или полимеров, способных проникать через мембрану клетки) или методом электропорации [57].

В результате использования генной модификации значительно усиливается как терапевтический эффект трансплантируемых клеток, так и регенеративный потенциал органа-мишени. Так, трансфекция стволовых клеток пуповинной крови плазмидными векторами, экспрессирующими гены нейрональной молекулы адгезии L1 или сосудистого эндотелиального фактора роста, усиливала их трофический эффект, облегчала миграцию в зону повреждения и способствовала выживанию нейронов [57]. Значительные клинические улучшения наблюдались и при использовании МСК, трансфицированных геном, кодирующим тирозингидроксилазу — фермент, необходимый для синтеза дофамина [58]. Трансплантация МСК с ретровирусной трансдукцией гена фактора роста клеток глии (GDNF) значительно повышает выживаемость дофаминергических нейронов и синтез ими дофамина [59].

Дальнейшее развитие данного направления предусматривает необходимость оптимизации методов обеспечения эффективной доставки и стабильной экспрессии трансгенов, кроме того, при проведении клинических испытаний следует учитывать возможную иммуногенность вирусного вектора, риск активации онкогенов и дестабилизации клеточного генома.

Таким образом, проведенные экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют о перспективности применения клеточных культур в терапии болезни Паркинсона. При этом ключевыми вопросами являются изучение механизмов действия трансплантированных клеток в условиях нейровоспаления, поиск оптимального источника данных клеток (костный мозг, жировая ткань, клетки мезенцефалона, надпочечников и т.д.), создание алгоритма подготовки материала, отработка техники трансплантации (интратекально, эндоназально, внутривенно, их комбинации), определение кратности введения и дозировки клеток, проведение клинико-лабораторной оценки эффективности проводимой клеточной терапии.

На базе научно-исследовательской лаборатории ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» с 2017 г. проводятся исследования по созданию биологического клеточного продукта с противопаркинсоническим действием и оценке его эффективности на экспериментальных моделях *in vivo* и *in vitro*. Клинические испытания разрабатываемого метода терапии планируется проводить в отделениях неврологии УЗ «5-я городская клиническая больница» г. Минска с участием сотрудников кафедры неврологии ГУО «БелМАПО». Планируется, что группу сравнения составят 10 пациентов с болезнью Паркинсона, получающие стандартную заместительную лекарственную терапию. Забор костного мозга и введение биологического клеточного продукта будет осуществляться в условиях стационара. Путь (пути) введения и максимально эффективное количество клеток в продукте

будет определено в экспериментах. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом УЗ «5-я городская клиническая больница» г. Минска и комитетом по этике ГУО «БелМАПО».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов при подготовке данной статьи.

Список литературы

1. Lihachev S.A. Parkinson's disease: the modern possibility of therapy / S.A. Lihachev, V.V. Vojtov, V.V. Vashhilin // *Neurology and neurosurgery in Belarus*. — 2009. — № 2. — P. 23-38.
2. Tropnikova G.K. Neuroinflammation u Parkinson's disease / G.K. Tropnikova // *News of biomedical science*. — 2011. — V. 4, № 4. — P. 204-2015.
3. Neuroendocrine abnormalities in Parkinson's disease / E. De Pablo-Fernandez, D.P. Breen, P.M. Bouloux et al. // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. — 2017. — V. 88, № 2. — P. 176-185.
4. Connolly B.S. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review / B.S. Connolly, A.E. Lang // *JAMA*. — 2014. — V. 311, № 16. — P. 1670-1683.
5. Krack P. Current application and limitations of surgical treatments for movement disorders / P. Krack, R. Martinez-Fernandez, M. Del Alamo, J.A. Obeso // *Mov. Disord.* — 2017. — V. 32, № 1. — P. 36-52.
6. Lunn J.S. Stem Cell Technology for Neurodegenerative Diseases / J.S. Lunn, S.A. Sakowski, J. Hur, E.L. Feldman // *Ann. Neurol.* — 2011. — V. 70, № 3. — P. 353-361.
7. Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in parkinsonism. First clinical trials / E.O. Backlund, P.O. Granberg, B. Hamberger et al. // *J. Neurosurg.* — 1985. — V. 62, № 2. — P. 169-173.
8. Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease / I. Madrazo, R. Drucker-Colin, V. Diaz et al. // *N. Engl. J. Med.* — 1987. — V. 316, № 14. — P. 831-834.
9. Unsicker K. The trophic cocktail made by adrenal chromaffin cells / K. Unsicker // *Exp. Neurol.* — 1993. — V. 123, № 2. — P. 167-173.
10. Transplant of cultured neuron-like differentiated chromaffin cells in a Parkinson's disease patient. A preliminary report / R. Drucker-Colin, L. Verdugo-Diaz, C. Morgado-Valle et al. // *Arch. Med. Res.* — 1999. — V. 30, № 1. — P. 33-39.
11. Anaya-Martinez V. Effects of graft placement site on the survival of adrenal medulla transplant into the brain and its relation with the recovery of motor function // V. Anaya-Martinez, E. Montiel-Flores, J. Espinosa-Villanueva, F. Garcia-Hernandez // *Arch. Med. Res.* — 2000. — V. 31, № 6. — P. 551-557.
12. Anisimov S.V. Cell therapy of Parkinson's disease: embryonic and adult tissue transplantation / S.V. Anisimov // *Progress of gerontology*. — 2008. — V. 21, № 4. — P. 575-592.
13. Kompoliti K. Neuropathological study 16 years after autologous adrenal medullary transplantation in a Parkinson's disease patient / K. Kompoliti, Y. Chu, K.M. Shannon, J.H. Kordower // *Mov. Disord.* — 2007. — V. 22, № 11. — P. 1630-1633.
14. Watts R.L. Intrastratial cogafts of autologous adrenal medulla and sural nerve in MPTP-induced parkinsonian macaques: behavioral and anatomical assessment / R.L. Watts, A.S. Mandir, R.A. Bakay // *Cell Transplant.* — 1995. — V. 4, № 1. — P. 27-38.
15. Date I. Chromaffin cell survival and host dopaminergic fiber recovery in a patient with Parkinson's disease treated by cogaft of adrenal medulla and pretransected peripheral nerve. Case report // I. Date, T. Imaoka, Y. Miyoshi, T. Ono, S. Asari, T. Ohmoto // *J. Neurosurg.* — 1996. — V. 84, № 4. — P. 685-689.

16. Bresjanac M. Xenogeneic adrenal medulla graft rejection rather than survival leads to increased rat striatal tyrosine hydroxylase immunoreactivity / M. Bresjanac, J., Sagen, G. Seigel, C.L. Paino, K.J. Kordower, D.M. Gash // *Neuropathol. Exp. Neurol.* — 1997. — V. 56, № 5. — P. 490-498.
17. Hansen J.T. Paraneuronal grafts in unilateral 6-hydroxydopamine-lesioned rats: morphological aspects of adrenal chromaffin and carotid body glomus cell implants / J.T. Hansen, G.Y. Bing, M.F. Natter, D.M. Gash // *Prog. Brain Res.* — 1988. — V. 78. — P. 507-511.
18. Espejo E.F. Cellular and functional recovery of Parkinsonian rats after intrastriatal transplantation of carotid body cell aggregates / E.F. Espejo, R.J. Montoro, J.A. Armengol, J. Lopez-Barneo // *Neuron.* — 1998. — V. 20, № 2. — P. 197-206.
19. Porzionato A. Trophic factors in the carotid body / A. Porzionato, V. Macchi, A. Parenti, R. De Caro // *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* — 2008. — V. 269. — P. 1-58.
20. Carotid body autotransplantation in Parkinson disease: a clinical and positron emission tomography study / A. Minguéz-Castellanos, F. Escamilla-Sevilla, G.R. Hotton et al. // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* — 2007. — V. 78, № 8. — P. 825-831.
21. Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease / O. Lindvall, P. Brundin, H. Widner et al. // *Science.* — 1990. — V. 247. — P. 574-577.
22. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease / Freed C.R., Greene P.E., Breeze R.E. et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2001. — V. 344. — P. 710-719.
23. Kordower J.H. Lewy body — like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease / J.H. Kordower, Y. Chu, R.A. Hauser, T.B. Freeman, C.W. Olanow // *Nature Medicine.* — 2008. — V. 14. — P. 504-506.
24. Mendez I. Dopamine neurons implanted into people with Parkinson's disease survive without pathology for 14 years / I. Mendez, A. Vinuela, A. Astradsson // *Nature Medicine.* — 2008. — V. 14. — P. 507-509.
25. Extensive graft-derived dopaminergic innervation is maintained 24 years after transplantation in the degenerating parkinsonian brain / Li W., Englund E., Widner H. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2016. — V. 113, № 23. — P. 6544-6549.
26. Politis M. Graft-induced dyskinesia in Parkinson's disease: high striatal serotonin/dopamine transporter ratio / M. Politis, W.H. Oertel, K. Wu et al. // *Mov. Dis.* — 2011. — V. 26, № 11. — P. 1997-2003.
27. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease / C.W. Olanow, C.G. Goetz, J.H. Kordower et al. // *Ann. Neurol.* — 2003. — V. 54, № 3. — P. 403-414.
28. Zhusupova A.S. Fetal neurotransplantation in Parkinson's disease: the first results / A.S. Zhusupova // *Clinical gerontology.* — 2006. — № 11. — P. 74-76.
29. Braam S.R. Feeder-free culture of human embryonic stem cells in conditioned medium for efficient genetic modification / S.R. Braam, C. Denning, E. Matsa, L.E. Young, R. Passier, C.L. Mummery // *Nat. Protoc.* — 2008. — V. 3, № 9. — P. 1435-1443.
30. Kim H.J. Regionally specified human neural progenitor cells derived from the mesencephalon and forebrain undergo increased neurogenesis following overexpression of ASCL1 / H.J. Kim, E. McMillan, F. Han, C.N. Svendsen // *Stem Cells.* — 2009. — V. 27, № 2. — P. 390-398.
31. Han F. Development of stem cell-based therapy for Parkinson's disease / F. Han, D. Baremberg, J. Gao, J. Duan, X. Lu, N. Zhang, Q. Chen // *Translational Neurogeneration.* — 2015. — V. 4. — P. 1-16.
32. Buttery P.C. Treating Parkinson's disease in the 21st century: can stem cell transplantation complete? / P.C. Buttery, R.A. Barker // *J. Comp. Neurol.* — 2014. — V. 21, № 3. — P. 2802-2816.
33. Büchele F. Two-step grafting significantly enhances the survival of fetal dopaminergic transplants and induces graft-derived vascularisation in a 6-OHDA model of Parkinson's disease / F. Büchele, M. Döbrössy, C. Hackl, A. Papazoglou, G. Nikkha // *Neurobiol. Dis.* — 2014. — V. 68. — P. 112-125.
34. Clarkson E.D. Strands of embryonic mesencephalic tissue show greater dopamine neuron survival and better behavioral improvement than cell suspensions after transplantation in parkinsonian rats / E.D. Clarkson, W.M. Adams, K.P. Bell, C.R. Freed // *Brain Res.* — 1998. — V. 806, № 1. — P. 60-68.
35. Anisimov S.V. Cell therapy of Parkinson's disease: the use of neonatal, fetal and embryonic stem cells / S.V. Anisimov // *Progress of gerontology.* — 2009. — V. 22, № 2. — P. 296-315.
36. Epigenetic activation of the Foxa2 gene is required for maintaining the potential of neural precursor cells to differentiate into dopaminergic neurons after expansion / S.Y. Bang, S.H. Kwon, S.H. Yi et al. // *Stem Cells Dev.* — 2015. — V. 24, № 4. — P. 520-533.
37. Lee S.H. Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells / S.H. Lee, N. Lumelsky, L. Studer, J.M. Auerbach, R.D. McKay // *Nature Biotechnology.* — 2000. — V. 18. — P. 675-679.
38. Nakamura M. Differentiation patterns of mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells into neurons / M. Nakamura, Y. Kamishibahara, A. Kitazawa, H. Kawaguchi, N. Shimizu // *Cytotechnology.* — 2016. — V. 68, № 3. — P. 409-417.
39. Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in animal models of Parkinson's disease / S. Kriks, J.-W. Shim, J. Piao et al. // *Nature.* — 2011. — V. 480. — P. 547-551.
40. Transplantation of human embryonic stem cell-derived cells to a rat model of Parkinson's disease: effect of in vitro differentiation on graft survival and teratoma formation / A. Brederlau, A.S. Correia, S.V. Anisimov et al. // *Stem Cells.* — 2006. — V. 24, № 6. — P. 1433-1440.
41. Failure of bone marrow cells to transdifferentiate into neural cells in vivo / R.F. Castro, K.A. Jackson, M.A. Goodell et al. // *Science.* — 2002. — V. 297. — P. 1299.
42. Chen D. Therapeutic effects of intranigral transplantation of mesenchymal stem cells in rat models of Parkinson's disease / D. Chen, W. Eu, W. Zhuang, C. Lv, F. Li, X. Wang // *J. Neurosci. Res.* — 2017. — V. 95, № 3. — P. 907-917.
43. Anisimov S.V. Cell therapy of Parkinson's disease: the use of somatic stem cells / S.V. Anisimov // *Progress of gerontology.* — 2009. — V. 22, № 1. — P. 150-166.
44. Robinson A.P. Human stem/progenitor cells from bone marrow enhance glial differentiation of rat neural stem cells: a role for transforming growth factor β and Notch signaling / A.P. Robinson, J.E. Foraker, J. Ylostalo, D.J. Prockop // *Stem Cells Dev.* — 2011. — V. 20, № 2. — P. 289-300.
45. Munoz J.R. Human stem/progenitor cells from bone marrow promote neurogenesis of endogenous neural stem cells in the hippocampus of mice / J.R. Munoz, B.R. Stoutenger, A.P. Robinson, J.L. Spees, D.J. Prockop // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2005. — V. 102. — P. 18171-18176.
46. Mesenchymal stem cells inhibit transmission of α -synuclein by modulating clathrin-mediated endocytosis in a parkinsonian model / S.H. Oh, H.M. Kim, H.J. Park et al. // *Cell Reports.* — 2016. — V. 14. — P. 835-849.
47. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects / F. Gao, S.M. Chiu, D.A. Motan et al. // *Cell Death and Disease.* — 2016. — V. 7. — P. 1-11
48. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells decreases oxidative stress, apoptosis, and hippocampal damage in brain of a spontaneous stroke model / M.L. Calio, D.S. Marinho, G.M. Ko, R.R. Ribeiro et al. // *Free Radic. Biol. Med.* — 2014. — V. 70. — P. 141-154.

49. Mu M.W. Comparative studies of neural differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by different induction methods // *M.W. Mu, Z.Y. Zhao, C.G. Li // Gen. Mol. Res.* — 2015. — V. 14, № 4. — P. 14165-14176.
50. The generating of neuroblasts from bone marrow stroma and their clinical use in nervous system diseases / V.A. Javorskaya, N.P. Voloshina, V.V. Hvisyuk et al. // *Ukrainian neurosurgical journal.* — 2006. — № 4. — P. 89-95.
51. Kitada M. Parkinson's disease and mesenchymal stem cells: potential for cell-based therapy / M. Kitada, M. Dezawa, J. Li et al. // *Parkinson's Disease.* — 2012. doi: 10.1155/2012/873706.
52. Intravenous administration of mesenchymal stem cells exerts therapeutic effects on parkinsonian model of rats: focusing on neuroprotective effects of stromal cell-derived factor-1 α / F. Wang, T. Yasuhara, T. Shingo et al. // *Neuroscience.* — 2010. — V. 11. — P. 52.
53. Open-labeled study of unilateral autologous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease / N.K. Venkataramana, S.K. Kumar, S. Balaraju et al. // *Transl. Res.* — 2010. — V. 155, № 2. — P. 62-70.
54. Mitochondrial dysfunction of immortalized human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells from patients with Parkinson's disease / H.E. Moon, S.H. Yoon, Y.S. Hur et al. // *Exp. Neurobiol.* — 2013. — V. 22, № 4. — P. 283-300.
55. Rapid single-step induction of functional neurons from human pluripotent stem cells / Y. Zhang, C.H. Pak, Y. Han et al. // *Neuron.* — 2013. — V. 17, № 5. — P. 785-798.
56. Wernig M., Zhao J.P., Pruszak J. et al. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* — 2008. — Vol. 105, № 15. — P. 5856-5861.
57. Islamov R.R. Genetic and cell therapy of neurodegenerative diseases / R.R. Islamov, A.A. Rizvanov, D.S. Guseva, A.P. Kijasov // *Gene and cells.* — 2007. — V. 2, № 3. — P. 29-39.
58. Therapeutic benefit of TH-engineered mesenchymal stem cells for Parkinson's disease / L. Lu, C. Zhao, Y. Liu et al. // *Brain Res. Protoc.* — 2005. — V. 15. — P. 46-51.
59. Wyse R.D. Use of genetically modified mesenchymal stem cells to treat neurodegeneration diseases // R.D. Wyse, C.L. Dunbar, J. Rossignol // *Int. J. Mol. Sci.* — 2014. — V. 15. — P. 1719-1745.

Получено 27.02.2017 ■

Юркевич М.Ю.¹, Зафранська М.М.¹, Пономарьов В.В.¹, Бойко А.В.¹, Алейникова Н.Є.²

¹ДЗО «Білоруська медична академія післядипломної освіти», м. Мінськ, Республіка Білорусь

²УОЗ «5-та міська клінічна лікарня», м. Мінськ, Республіка Білорусь

Клітинна терапія хвороби Паркінсона: досягнення і перспективи

Резюме. Огляд літератури присвячений основним напрямкам, проблемам і перспективам використання клітинної терапії при хворобі Паркінсона. Протягом останніх десятиліть проведені численні експериментальні і клінічні дослідження, засновані на використанні в терапії паркінсонізму дофамін-секретуючих клітин (клітини мозкового шару надниркових залоз і сонного гломуса), клітин фетального мезенцефалона, генетично модифікованих клітин, а також стовбурових клітин різного походження, в тому числі ембріональних, мезенхімальних, нейрональних і індукованих плюрипотентних стов-

бурових клітин. Незважаючи на значний прогрес в цій галузі, для практичного впровадження наданих підходів необхідно вирішити ряд питань, пов'язаних з етичними і технічними факторами, досить високою варіабельністю результатів клітинної терапії, наявністю в ряді випадків побічних ефектів, ризиком онкотрансформації, необхідністю стандартизації протоколів спрямованого нейрогенного диференціювання. **Ключові слова:** хвороба Паркінсона; клітинна терапія; дофамін-секретуючі клітини; стовбурові клітини; генетично модифіковані клітини; огляд

M. Yu. Yurkevich¹, M. M. Zafranskaya¹, V. V. Ponomarev¹, A. V. Boiko¹, N. E. Aleinikova²

¹Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²5th City Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

Cell therapy in Parkinson's disease: opportunities and challenges

Abstract. This review focuses on the main trends, opportunities and challenges of cell therapy application in Parkinson's disease. During the past decades, countless experimental and clinical studies were held based on introducing various means of treatment parkinsonism, such as dopamine-producing cells, fetal brain tissue cells, genetically modified cells, as well as stem cells of different origin, including embryonic, neural, mesenchymal and induced pluripotent stem

cells. While considerable progress has been made in this area, several practical aspects still require further consideration, including those involving ethical and technical factors, significant variability of the outcomes, side effects and oncological risks, as well as the need for induced neural differentiation protocol unification and compatibility. **Keywords:** Parkinson's disease; cell therapy; dopamine-producing cells; stem cells; genetically modified cells; review

Продолжение материалов конференции, посвященных 70-летнему юбилею кафедры неврологии и нейрохирургии Белорусской медицинской академии последипломного образования, в «Международном неврологическом журнале» № 5, 2017 года.