

УДК 612.649.011.87:615.014.41:616.8-08

В.С. Айдарова, О.В. Кудокоцева*, И.И. Ломакин, Г.А. Бабийчук

Возможности использования клеток кордовой крови в неврологии

UDC 612.649.011.87:615.014.41:616.8-08

V.S. Aidarova, O.V. Kudokotseva*, I.I. Lomakin, G.A. Babijchuk

Applications of Cord Blood Cells in Neurology

Реферат: В обзоре представлены результаты исследований зарубежных и отечественных ученых, отражающие основные достижения в области применения клеточных технологий в терапии болезней нервной системы и лечебного потенциала клеток кордовой крови в экспериментальной и клинической неврологии. Дана классификация клеточных популяций, выделенных из кордовой крови, показана возможность их применения для лечения неврологического дефицита. Рассматриваются различные подходы к трансплантации клеток кордовой крови в зависимости от способа введения и концентрации клеток. Обсуждаются возможные механизмы терапевтического действия этих клеток, а также их способность к миграции в мозг через гематоэнцефалический барьер.

Ключевые слова: клеточная терапия, кордовая кровь, стволовые клетки, неврологический дефицит.

Реферат: В огляді представлено результати досліджень зарубіжних і вітчизняних вчених, які відображають основні досягнення в галузі застосування клітинних технологій у терапії хвороб нервової системи та лікувального потенціалу клітин кордової крові в експериментальній і клінічній неврології. Подано класифікацію клітинних популяцій, виділених із кордової крові, доведено можливість їх застосування для лікування неврологічного дефіциту. Розглядаються різні підходи до трансплантації клітин кордової крові залежно від способу введення та концентрації клітин. Обговорюються можливі механізми терапевтичної дії цих клітин, а також питання їхньої здатності до міграції в мозок через гематоенцефалічний бар'єр.

Ключові слова: клітинна терапія, кордова кров, стовбурові клітини, неврологічний дефіцит.

Abstract: This review represents the findings, reflecting the main achievements in the scope of cell based therapy of nervous diseases and therapeutic potential of cord blood cells in experimental and clinical neurology. The cord blood-derived cell populations are classified and the possibility of their application in therapy of neurological deficit is demonstrated. Different approaches to cord blood cell transplantation are considered, depending on administration way and cell concentration. Possible mechanisms of therapeutic effect of these cells, as well as their ability to migrate into the brain through the blood-brain barrier are discussed.

Key words: cell therapy, cord blood, stem cells, neurological deficit.

Болезни нервной системы по своей частоте и распространенности занимают в общей структуре заболеваемости четвертое место в мире [26, 28]. По статистическим данным ВОЗ [28] приблизительно 1 млрд людей, т. е. седьмая часть населения Земли, страдает от болезней нервной системы (эпилепсия, мигрень, энцефалопатии с различными проявлениями старческого слабоумия, болезнь Альцгеймера и др.). Нейродегенеративные заболевания характеризуются гибелью нейронов в специфических областях головного или спинного мозга, проявляются в виде множественных когнитивных и/или двигательных нарушений (в зависимости от нозологии), быстро приводят к инвалидизации, а затем к смерти [26, 28].

В связи с этим изучение механизмов функционирования нервной системы в норме и при патоло-

The neurological disorders are the fourth most widespread worldwide in general morbidity in terms of incidence and prevalence [59, 68]. According to the WHO statistics [68], about 1 billion of people, *i. e.* each seventh of the world population suffers from diseases of nervous system (epilepsy, migraine, encephalopathy with various manifestations of senile dementia, Alzheimer's disease *etc.*). Neurodegenerative disorders are characterized by neuron death in specific areas of brain or spinal cord, and manifested as multiple cognitive and/or motor disorders (depending on nosology), rapidly lead to disability, and then death [59, 68].

The study of mechanisms of nervous system functioning in health and pathology is herewith one of the most rapidly developing areas in contemporary science. The research relevance is determined not

Отдел криофизиологии, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

*Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61016;
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-30-84,
электронная почта: kudokosha@gmail.com

Поступила 10.03.2016
Принята в печать 24.05.2016

Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2016. – Т. 26, №2. – С. 103–115.
© 2016 Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины

Department of Cryophysiology, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

*To whom correspondence should be addressed:
23, Pereyaslavskaya str., Kharkiv, Ukraine 61016;
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 3084,
e-mail: kudokosha@gmail.com

Received March, 03, 2016
Accepted May, 24, 2016

Probl. Cryobiol. Cryomed. 2016. 26(2): 103–115.
© 2016 Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

гии является одним из наиболее быстро развивающихся направлений в современной науке. Актуальность исследований определяется не только широкой распространенностью, но и отсутствием эффективных способов лечения ряда тяжелых неврологических и психиатрических заболеваний. До недавнего времени такие неврологические заболевания считались быстро прогрессирующими и неизлечимыми. Медикаментозная и поддерживающая терапия в ряде случаев не дает желаемого эффекта, а только ослабляет симптомы и сопровождается привыканием к лекарственным препаратам. В этой связи необходим поиск новых, более эффективных методов профилактики и лечения неврологических заболеваний [16, 26, 28]. Особые надежды возлагаются на создание комплекса иммунобиологических препаратов, содержащих стволовые клетки.

Результаты исследований в области биологии стволовых клеток легли в основу нового направления в медицине – клеточной терапии. Суть клеточной терапии заключается в использовании живых клеток различного происхождения, которые при введении в организм пациента способны к активному функционированию, результатом чего является улучшение или модификация основной функции пораженного органа или ткани [9].

Предпосылками для создания клеточных технологий [39, 40] были открытия кроветворной стволовой клетки (СК), нейтральных и других региональных прогениторных клеток-предшественников, унипотентной стромальной стволовой клетки костного мозга; идентификация плюрипотентных эмбриональных стволовых клеток мыши и человека; обнаружение унипотентных стволовых клеток в кордовой крови (КК), обонятельном эпителии и других структурах. Одновременно с этим совершенствовалась техника культивирования клеток вне организма с возможностью получения иммортализованных (бессмертных) немалигнизирующихся линий, а также разработка технологии получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток с последующей направленной дифференцировкой *in vitro* в производные разных зародышевых листков.

Основные цели клеточной терапии состоят в замещении нефункционирующей или дефектной ткани; стимуляции собственных прогениторных клеток организма и усилении репаративной регенерации; адресной доставке различных регуляторных веществ (факторы роста фибробластов и нервов; фактор, стимулирующий рост макрофагальных и эритроидных колоний; инсулиноподобный и эндотелиотропный фактор роста; пролиферативные цитокины, предотвращающие гиперстимуляцию) [7, 9, 10, 17, 48].

only by the prevalence, but also the lack of efficient therapeutic methods for some severe neurological and psychiatric diseases. Until recently, these neurological diseases have been considered as rapidly progressive and incurable. Drug-based and supporting therapies sometimes do not provide any desired cure, only alleviate the symptoms and are accompanied by drug habituation. In this regard, the search for novel, more efficient methods for prevention and therapy of neurological diseases is necessary [48, 59, 68]. Special expectations exist as for designing a complex of stem cell-contained immune biological preparations.

The outcomes of research performed in the area of stem cell biology formed the basis for a new direction in medicine called as cell therapy. The essence of cell therapy is to use the living cells of different origin, which, being administered into a patient's body are capable of active functioning, resulting in either improvement or modification of the basic function of affected organ or tissue [29].

Cell-based therapy [17, 18] was pre-conditioned by the discovery of hematopoietic stem cell (SC), neural and other regional progenitor cells, unipotent stromal stem cell of bone marrow; identification of pluripotent murine and human embryonic stem cells; detection of unipotent stem cells in cord blood (CB), olfactory epithelium, and other structures. At the same time the *in vitro* cell culture technologies were developed and reached the possibility to obtain immortalized (immortal) not-malignized lines, as well as to procure the induced pluripotent stem cells with following directed differentiation *in vitro* into different germ layers derivatives.

The main purposes of cell therapy are as follows: replacement of either non-functioning or defect tissue; stimulation of body's own progenitor cells and strengthen reparative regeneration; targeted delivery of various regulatory substances (growth factors of fibroblasts and nerves; the factor, stimulating growth of macrophage and erythroid colonies; insulin-like and endotheliotropic growth factor; proliferative cytokines, preventing hyperstimulation) [25, 27, 29, 30, 50].

During cell therapy a patient receives biologically active, balanced compositions of natural origin, possessing multidirectional therapeutic effect and affecting metabolism of the whole body, as well as stem and progenitor cells, capable to implement substitutive functions [28, 29].

Thus, the positive effect of applying cell therapy with stem cells may be obviously stipulated by combination of both substitutive and controlling/inducing effects.

In current medical practice the cell therapy involves the treatment with embryonic and fetal stem cells,



В ходе клеточной терапии пациент получает биологически активные, сбалансированные соединения естественного происхождения, обладающие разнонаправленным лечебным действием и влияющие на метаболизм целостного организма, а также стволовые и прогениторные клетки, которые способны выполнять заместительные функции [8, 9].

Таким образом, позитивный эффект от применения клеточной терапии с использованием стволовых клеток, очевидно, обусловлен сочетанием заместительного и организующе-индуцирующего действия.

В современной медицинской практике для клеточной терапии используется лечение эмбриональными и фетальными стволовыми клетками, препаратами пуповинно-плацентарно-амниотического комплекса, стволовыми клетками, полученными из периферической крови, костного мозга и КК [8, 9, 16].

Для использования биообъектов в клеточной трансплантологии существует необходимость их долгосрочного хранения, в связи с чем разрабатываются технологии длительного низкотемпературного хранения препаратов [4, 23].

В Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины разработан многоэтапный способ замораживания ядродержащих стволовых клеток (ЯСК) КК [29]. Данный метод использует в качестве криопротектора 5%-й раствор ДМСО в сочетании с аутологичной плазмой КК и полиглюкином и позволяет получить высокие показатели жизнеспособности, сохранить до 95% гемопоэтических СК CD34⁺ и до 90% ЯСК КК [1, 2].

Клеточная терапия и технологии являются объектами для многих научных и практических работ в Украине и за рубежом [6, 8, 9, 16]. Результаты нейробиологических исследований конца XX века свидетельствуют о возможности восстановления нарушенных болезнью или травмой функций мозга посредством пересадок эмбриональной нервной ткани [26, 55]. Однако трансплантация тканей и клеток эмбрионального и фетального происхождения не может быть рекомендована для широкого клинического применения из-за религиозных и этических проблем [28].

В настоящее время внимание ученых направлено на изучение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [6, 16, 69]. В результате проведения доклинических испытаний клеточной терапии на животных А. Uccelli и соавт. [65] доказали эффективность и безопасность применения МСК в клинической практике.

Многочисленные экспериментальные данные и первые результаты клинических исследований свидетельствуют об эффективности применения трансплантации МСК при лечении инсульта,

preparations of umbilical-placental-amniotic complex, stem cells derived from peripheral blood, bone marrow and CB [28, 29, 48].

Long-term storage is necessary for proper application of biological objects in cell transplantology, therefore there are developed the techniques for long-term low temperature storage of the preparations [8, 56].

At the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine the multistep method for CB nucleated stem cells (NSCs) freezing was developed [4]. This method was based on using 5% DMSO solution combined with CB autologous plasma and polyglucin as cryoprotectant, which enabled to obtain high cell viability, preserve up to 95 and 90% of CD34⁺ hematopoietic SCs and cord blood nucleated stem cells (CB NSCs), respectively [2, 3].

Cell-based therapy and cell technologies are the areas of interest for many fundamental and applied researches worldwide and in Ukraine, in particular, [28, 29, 48, 65]. Neurobiological findings in the late 20th century indicated that brain functions, injured either by disease or trauma could be recovered after embryonic nervous tissue transplantation [39, 59]. However, the transplantation of tissues and cells of embryonic and fetal origins could not be recommended for a wide clinical application because of religious and ethical issues [68].

The attention of scientists is now focused on studying the mesenchymal stem cells (MSCs) [48, 65, 69]. As a result of pre-clinical trials of cell therapy in animals А. Uccelli *et al.* [63] proved the efficiency and safety of MSCs application in clinical practice.

Numerous experimental findings and the first results of clinical studies testify to the efficiency of application of MSCs transplantation in therapy of stroke, traumas of central nervous system and neurodegenerative diseases [1, 7, 50, 53, 58, 65, 68]. Thus, the therapy involving the MSCs application is one of promising ways to cure neurodegenerative diseases. Bone marrow and adipose tissue are the most common sources of MSCs [34, 65]. It was established that MSCs could be derived from CB as well [20, 38, 43, 45, 49, 61, 70]. S. Kern *et al.* [34] revealed no significant morphological and phenotypic differences in the MSCs derived from bone marrow, adipose tissue, and CB. The CB-derived MSCs showed their great potential for multilineage differentiation [34, 61]. In such a way, the cord blood, previously applied in hematology only [30, 36, 65] gained a new applications in therapy of non-hematological diseases [5, 16, 42, 57, 65]. In particular, the studies carried out in our laboratory showed that administration of cryopreserved CB NSCs



травмах центральной нервной системы и нейродегенеративных заболеваниях [6, 17, 20, 25, 28, 30, 32]. Таким образом, терапия с МСК является одним из наиболее перспективных способов лечения нейродегенеративных заболеваний. Костный мозг и жировая ткань – наиболее распространенные источники МСК [6, 52]. Установлено, что МСК можно получать также из КК [14, 42, 54, 59, 61, 63, 70]. S. Kern и соавт. [52] не выявили никаких существенных морфологических и фенотипических различий МСК, полученных из костного мозга, жировой ткани и КК. Известно также, что МСК, выделенные из КК, имеют большой потенциал для мультилинейной дифференцировки [52, 63]. Таким образом, КК, которая ранее применялась только в гематологии [6, 10, 11], может использоваться для лечения негематологических заболеваний [3, 6, 13, 24, 27]. В частности, исследования, выполненные в отделе криофизиологии ИПКиК НАН Украины, показали, что введение криоконсервированных ЯСК КК положительно влияет на состояние гомеостаза у крыс разных возрастных групп при стресс-индуцированной артериальной гипертензии, нормализуя уровни липидов, глюкозы и конечных продуктов обмена оксида азота в сыворотке крови [3]. Кроме того, криоконсервированные препараты КК нормализуют нейрогуморальную регуляцию сердечного ритма при алиментарном ожирении [27] и физиологическом старении крыс [13].

Большое количество работ указывает и на возможность применения клеток КК в лечении заболеваний нервной системы [14, 15, 19, 60, 62, 70].

В.В. Лебединец и соавт. [12] на примере экспериментальной модели ишемического инсульта показали, что введение криоконсервированных клеток кордовой крови способствует нормализации метаболизма и коррекции биохимических процессов в организме экспериментальных животных.

В настоящее время лечебный потенциал клеток КК описан во многих работах по экспериментальной неврологии [5, 6, 10, 58]. Преимуществами клеток, выделенных из КК, являются безопасность, доступность в получении, низкая иммуногенность, отсутствие законодательных и этических запретов для применения.

Большой интерес к КК обусловлен особенностями ее клеточного состава. Уже в 70-х годах XX столетия было известно, что КК содержит большее количество гемопоэтических СК (ГСК) по сравнению с периферической кровью детей и взрослых [7]. Исследования свойств ГСК показали их высокий пролиферативный потенциал, способность к мультилинейной дифференцировке и трансдифференцировке *in vivo* и *in vitro* [6, 7, 10, 15]. В КК, кроме ГСК, была выявлена плюрипо-

positively affected the homeostasis in rats of various age which got stress-induced arterial hypertension; the treated animals showed the normalization of the level of lipids, glucose and the final products of nitric oxide metabolism in serum blood [5]. In addition, the CB cryopreserved preparations normalize a neurohumoral regulation of heart rate in rats under alimentary obesity [16] and physiological aging [42].

Numerous researches point to a possible use of CB cells in therapy of nervous diseases [43, 46, 47, 52, 60, 70]. For example, V.V. Lebedinets et al. [37] in experimental model of ischemic stroke demonstrated the administration of cryopreserved cord blood cells as contributing one to metabolism normalization and correction of biochemical processes in experimental animals.

To date a therapeutic potential of CB cells was reported by many papers in the area of experimental neurology [9, 30, 44, 65]. The advantages of CB-derived cells were the safety, relatively easy procurement, low immunogenicity, absence of legal and ethical restrictions.

High interest for CB was stipulated by the peculiarities of its cell composition. As long as in the 1970s the CB was known to contain a higher number of hematopoietic SCs (HSCs) as compared to the peri-pheral blood of children and adults [25]. Studies of HSCs properties showed their high proliferative potential, the capability for multilineage differentiation and transdifferentiation *in vivo* and *in vitro* [25, 30, 46, 65]. Moreover, in addition to HSCs CB had a pluripotent population of SCs, capable to express neuronal markers [26], the population of CD133⁺ cells [23], and endothelial progenitors [1]. Thus, among the CB progenitors one emphasizes both stem cells (least mature), referred to long-lived populations and capable to maintain their population due to proliferation, as well as progenitors (short-lived), rapidly differentiating and giving rise to functionally active cells of blood and immune system.

K.N. Yaroshin [68] classified the CB-derived cells as follows: hematopoietic stem ones (CD34⁺, CD31⁺, CD59⁺, Sca-1⁺, Thy1⁺, Oct-4⁺, Nanog⁺, SOX2⁺, FGF-4⁺); multipotent mesenchymal stromal ones; progenitor endothelial ones (CD34⁺, GATA2⁺, Flk-1⁺); and side population cells, capable to differentiate into myogenic and hematopoietic directions.

J. Xiao *et al.* [67] managed to isolate from human CB the population of non-hematopoietic stem cells (expressing Oct-4, Rex-1, Sox-2), which could positively affect the course of experimental cerebral ischemia in rats. The authors established this cell type as characterized by a regulatory action mechanism, manifesting both under local transplantation into ischemic area, and when administered intrave-



тентная популяция СК, способная экспрессировать нейрональные маркеры [47], популяция CD133⁺-клеток [45], эндотелиальные прогениторные клетки [30]. Таким образом, среди клеток-предшественников КК выделяют как стволовые клетки (наименее зрелые), которые относятся к длительно живущим популяциям и способны поддерживать свою численность за счет пролиферации, так и прогениторные клетки (коротко живущие), быстро дифференцирующиеся и дающие начало функционально активным клеткам крови и иммунной системы.

К.Н. Ярошиным [28] предложена классификация клеток, выделенных из КК: стволовые кроветворные (CD34⁺, CD31⁺, CD59⁺, Sca-1⁺, Thy1⁺, Oct-4⁺, Nanog⁺, SOX2⁺, FGF-4⁺); мультипотентные мезенхимальные стромальные; прогениторные эндотелиальные (CD34⁺, GATA2⁺, Flk-1⁺); клетки *side population*, способные дифференцироваться в миогенном и кроветворном направлениях.

Ж. Хяо и соавт. [68] удалось выделить из КК человека популяцию стволовых негемопоетических клеток (экспрессирующих Oct-4, Rex-1, Sox-2), которые способны положительно влиять на течение экспериментальной ишемии мозга крыс. Авторами было установлено, что для данного типа клеток характерен регуляторный механизм действия, который проявляется как при локальной трансплантации в ишемизированную зону, так и при внутривенном введении. Учитывая, что мононуклеарные клетки КК человека являются источником ростовых и трофических факторов, цитокинов и хемокинов, многие исследователи поддерживают регуляторный механизм действия клеток КК [6, 8, 10, 16, 43, 58].

Для изучения терапевтической эффективности трансплантации клеток КК в неврологии были использованы результаты работ по выделению и характеристике нейрональных клеток из стволовых популяций КК [5]. На основании полученных данных [33, 35, 44, 49, 50, 62] было установлено, что различные популяции стволовых и прогениторных клеток КК могут быть подвергнуты дифференцировке *in vitro* во все виды нервных клеток. Результаты экспериментов *in vitro*, к сожалению, не всегда были подтверждены данными *in vivo*. Так, при унилатеральной пересадке пластик-адгезивной мононуклеарной преиодифференцированной фракции КК в желудочки головного мозга новорожденных крыс только 2% из трансплантированных клеток экспрессировали маркер микроглии (GFAP) [71]. Однако было показано, что трансплантированные мононуклеары КК способны к преимущественной миграции в очаги нейродегенерации и могут служить источником нейротрофических

факторов. Taking into account the fact, that human CB mononuclear cells are the source of growth and trophic factors, cytokines and chemokines, many researchers consider CB cell to have a regulatory mechanism of action [21, 28, 30, 44, 48, 65].

Therapeutic efficiency of CB cell transplantation in neurology was characterized on the base of findings on isolation and characteristics of neural cells derived from CB stem populations [9]. In particular, the different populations of CB stem and progenitor cells were established as capable to undergo differentiation *in vitro* into all the types of nerve cells [10, 12, 22, 31, 32, 60]. Unfortunately, the findings *in vitro* were not always confirmed by the *in vivo* data. For example, unilateral transplantation of plastic-adhesive mononuclear pre-differentiated CB fraction into the brain ventricles of newborn rats resulted in expression of the microglial marker (GFAP) in only 2% of the transplanted cells [71]. However, the transplanted CB mononuclears were capable of a predominant migration into neurodegenerative foci and able to be the source of neurotrophic (neuromodulatory) factors: brain-derived neurotrophic factor (BDNF); nerve growth factor (NGF); glial-derived neurotrophic factor (GDNF); neurotrophins *etc.* [21, 24, 41, 44]. The authors believed [71] that a high heterogeneity in CB mononuclear fraction likely caused a low survival of transplanted cells and absence of migration typical for neuronal SCs.

In the model of ischemic stroke J. Chen *et al.* [15] demonstrated the capability of transplanted CB HSCs to migrate into the damaged area of rat brain and differentiate into neurons and glial cells (GFAP⁺, NeuN⁺, MAP-2⁺), but only when HSCs-enriched suspension of CB mononuclears were intravenously administered (up to 95% in transplant). The introduction way and cell composition of the preparation probably played a pivotal role in improving a therapeutic efficiency of transplanted cells.

A.E. Willing *et al.* [66] compared the different ways of CB cell transplantation. According to the results of functional tests, the scholars concluded that an intravenous cell administration could be therapeutically more advantageous than an intrastrial one. Interesting findings were obtained when transplanting CB cells to rats with brain injury model. When the CB SCs were intravenously administered [15, 18, 19] their migration into the brain was almost absent. However, when the CB SCs were intraperitoneally introduced [13], the effect of neurons' recovery was evident. Findings of others scientists [11, 44] demonstrated that a positive therapeutic effect could be observed even when the transplanted cells did not come directly into a target organ.

(нейромодуляторных) факторов: мозгового нейротрофического фактора (BDNF); фактора роста нервов (NGF); глиального нейротрофического фактора (GDNF); нейротрофинов и др. [43, 46, 57, 58]. Возможной причиной низкой выживаемости трансплантированных клеток и отсутствия характерной для нейрональных СК миграции, по мнению авторов [71], является высокая степень гетерогенности моноклеарной фракции КК.

J. Chen и соавт. [38] на модели ишемического инсульта продемонстрировали способность трансплантированных ГСК КК мигрировать в зону поражения головного мозга крыс и дифференцироваться в нейроны и клетки глии (GFAP⁺, NeuN⁺, MAP-2⁺), но только при условии внутривенного введения обогащенной ГСК суспензии моноклеаров КК (до 95% в трансплантате). Вероятно, способ введения и клеточный состав препарата играют решающую роль в повышении терапевтической эффективности трансплантированных клеток.

A.E. Willing и соавт. [67] провели сравнительный анализ разных способов трансплантации клеток КК. По результатам функциональных тестов исследователи заключили, что внутривенное введение клеток может быть терапевтически выгоднее интрастриального. Интересные результаты были получены при трансплантации клеток КК крысам с моделью повреждения головного мозга. Когда СК КК вводились внутривенно [38, 40, 41], практически не было обнаружено их миграции в мозг. Однако, когда СК КК были введены внутрибрюшинно [36], то был очевиден эффект восстановления нейронов. Исследования других авторов [34, 58] показали, что позитивный лечебный эффект может наблюдаться даже в том случае, если трансплантируемые клетки не попадают непосредственно в орган-мишень.

Ранее описаны [21, 37, 53, 63] терапевтические эффекты трансплантации клеток КК при экспериментальном инсульте, полученные при разных концентрациях вводимых клеток и степени очистки трансплантата. Показано, что внутривенное введение клеток КК человека крысам с моделью ишемического инсульта в дозе 1 и 10 млн было максимально эффективным, клетки обнаруживались в головном мозге в периинсультной зоне эпсилатеральной стороны [66]. К.Г. Сурков и соавт. [21] показали, что однократное внутривенное введение моноклеаров КК человека в дозах 2×10^4 или 2×10^6 на животное (белые крысы-самцы линии Вистар с моделью ишемического инсульта) уменьшало клинические проявления ишемии мозга. К 10-й неделе животные с моделированным ишемическим инсультом, получившие препарат, по

A therapeutic effect of CB cell transplantation has been described previously at experimental stroke [14, 35, 54, 61], herewith the concentration of introduced cells and the purification degree of a transplant varied. An intravenous administration of human CB cells to rats with ischemic stroke model in the dose of 1 and 10 million was shown to be maximally efficient, the cells were revealed in brain in a peristroke area of ipsilateral side [64]. Surkov K.G. *et al.* [54] showed a single intravenous injection of human CB mononuclears at doses of either 2×10^4 or 2×10^6 per animal (white male Wistar rats with ischemic stroke model) to reduce a clinical manifestation of cerebral ischemia. To week 10 the animals with simulated ischemic stroke, which received the drug had almost the same degree of neurological deficit as the sham treated animals. Application of human CB cell preparation efficiently reduced the severity of both early and long-term consequences of ischemic brain damages. The authors suggested that CB cell preparation might be efficient in prevention and/or treatment of stroke consequences [55].

In the model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in G93A mice the intravenous administration of CB mononuclears resulted in their migration into different organs, primarily into spleen [24]. Other experiments [54] showed that the bone marrow-derived SCs migrated into all the organs and tissues, including the brain, moreover, within 3 months the level of studied cell marker of donor origin (Y-chromosome *sry* gene marker) gradually increased, that might testify to the proliferation and differentiation of transplanted cells. The CB cells were also revealed 10–12 weeks after intravenous administration to G93A mice in loci of motoneuron degradation of brain and spinal substance and expressed the neuronal markers Nestin, III Beta-Tubulin (TuJ1), glial fibrillary acidic protein (GFAP) [24].

The efficiency of intravenous infusion of CB mononuclear fraction was demonstrated in SOD-1 mice, which served as a model of the human ALS [14, 19]. There was demonstrated a significant increase in animal survival, but the mechanisms of CB cell action have remained unstudied. O. Lindvall *et al.* [39] established the application of CB SCs in therapy of Parkinson's disease in rats to result in delayed symptoms onset and disease progression, that contributed to a significant rise in survival of the animals with the simulated disease [14, 19, 24]. W.V. Nikolic *et al.* [45] simulated Alzheimer's disease in Tg2576 AD mice and demonstrated that intravenous administration of CB SCs was capable to slow down its progression. A pronounced reduction of the level of β -amyloid plaques and associated astrogliosis in experimental animals was observed after



степени неврологического дефицита практически не отличались от ложнопериоперированных животных. Показана эффективность применения препарата клеток КК человека с целью снижения выраженности как ранних, так и отдаленных последствий ишемического поражения мозга. Авторы полагают, что клеточный препарат КК может быть эффективным средством профилактики и/или лечения последствий инсульта [22].

На модели бокового амиотрофического склероза (БАС) у мышей линии G93A было показано, что после внутривенного введения мононуклеары КК мигрируют в различные органы, преимущественно в селезенку [46]. Другими исследователями было доказано [21], что СК, выделенные из костного мозга, мигрируют во все органы и ткани, в том числе и в головной мозг, причем в течение трех месяцев уровень определяемого маркера клеток донорского происхождения (маркер *su*-гена Y-хромосомы) постепенно увеличивается, что может свидетельствовать о пролиферации и дифференцировке трансплантируемых клеток. Клетки КК также выявлялись через 10–12 недель после внутривенной трансплантации мышам линии G93A в локусах дегенерации мотонейронов вещества головного и спинного мозга и экспрессировали нейрональные маркеры Nestin, III Beta-Tubulin (TuJ1), glial fibrillary acidic protein (GFAP) [46].

Эффективность внутривенной инфузии мононуклеарной фракции КК была продемонстрирована и на мышцах линии SOD-1, которая служит моделью БАС человека [37, 41]. Показано значимое увеличение выживаемости животных, однако механизмы действия клеток КК остались неизученными. O. Lindvall и соавт. [55] установили, что в результате применения СК КК при лечении болезни Паркинсона у крыс происходила задержка в возникновении симптомов и прогрессировании болезни, что способствовало значимому повышению процента выживания животных с моделью данного заболевания [37, 41, 46]. W.V. Nikolic и соавт. [59] на модели болезни Альцгеймера у мышей линии Tg2576 AD показали, что внутривенное введение СК КК может замедлить ее прогрессирование. Выраженное снижение уровня β -амилоидных бляшек и связанных с ними астроцитоза у экспериментальных животных наблюдалось после нескольких трансфузий небольших по клеточности доз СК КК. A.D. Bachstetter и соавт. [31] показали, что внутривенные инъекции СК КК могут стимулировать нейрогенез в мозге старых крыс.

Рассматривая терапевтический механизм действия КК на отдельные ткани и органы, в т. ч. мозг, необходимо выяснить возможность проникновения ЯСК через гистогематические барьеры, а при

several transfusions of small cell amounts of CB SCs. A.D. Bachstetter *et al.* [6] showed that CB SCs intravenous injections was capable of stimulation of neurogenesis in aged rat brain.

Considering a therapeutic mechanism of CB action on certain tissues and organs, including the brain, should be accompanied with elucidation of possible NCs penetration through the histo-hematic barriers, and through the blood-brain barrier in case of neurological pathology.

K.N. Yarygin *et al.* [68] summarized numerous experimental data and concluded that CB NCs did not migrate through the blood brain barrier (BBB), but only stimulated endogenous neuro- and angiogenesis. This fact may be confirmed by the revealed by C.V. Borlongan *et al.* [11] increase in GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) concentration in brain by 68% and three neurotrophic factors (GDNF, NGF, BDNF) in peripheral blood of animals with stroke by 15% only after administering cells together with mannitol, possessing the feature of increasing the BBB permeability.

There was another opinion about the CB cell capability to migrate into a damaged brain through the BBB. M. Vendrame *et al.* [64] found the introduced cells of human CB mononuclears in the brain of rats with ischemic stroke model in a peristroke area of ipsilateral side. A.O. Solovieva *et al.* [54] basing on the own experimental studies assumed a possible transition of the transplanted stem cells through the BBB and their active migration triggered by the effect of molecular signals (for example, cytokines and chemokines, produced by nervous system cells). Other papers [12, 40] also demonstrated the capability of intravenously administered CB SCs to penetrate into the brain, migrate into its damaged areas and reduce neurological injury. These findings corresponded to the data of G.C. Kopen *et al.* [35], and confirmed the SCs properties to penetrate through the BBB and migrate from the injection site into different brain areas.

Basing on numerous experiments in the field of CB neurological applications, the scientists initiated the clinical trials of this method of cell therapy. K.-S. Kang *et al.* [33] described the case of recovered motor function (walking) after CB cell transplantation to paralyzed woman following 17-year of spinal cord injury. As a result of observation in neurological patients within 1–12 months post treatment, the scientists found that the introduction of CB cells was well tolerated and caused neither acute nor long-term adverse reactions [46, 51]. The majority of patients of different ages had a significantly decreased psychoneurological deficit and improved cognitive functions. For example, in patients with



неврологической патологии – через гематоэнцефалический барьер.

К.Н. Ярыгин и соавт. [28] обобщили многочисленные экспериментальные данные и пришли к заключению, что ЯСК КК не мигрируют через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), а только стимулируют эндогенный нейро- и ангиогенез. Подтверждением может служить выявленное С.В. Borlongan и соавт. [34] повышение концентрации GDNF (*glial cell line-derived neurotrophic factor*) в головном мозге на 68% и трех нейротрофических факторов (GDNF, NGF, BDNF) в периферической крови животных с инсультом на 15% только после введения клеток совместно с маннитолом, повышающим проницаемость ГЭБ.

Существует и другое мнение по поводу способности клеток КК мигрировать в поврежденный головной мозг через ГЭБ. М. Vendrame и соавт. [66] обнаружили введенные клетки мононуклеаров КК человека в головном мозге крыс с моделью ишемического инсульта в периинсультной зоне эпсилатеральной стороны. А.О. Соловьева и соавт. [21] на основании собственных экспериментальных исследований предполагают возможность перехода трансплантируемыми стволовыми клетками гематоэнцефалического барьера и их активную миграцию под действием молекулярных сигналов (например, цитокинов и хемокинов, продуцируемых клетками нервной системы). В других работах [35, 56] также показана способность внутривенно введенных СК КК проникать в мозг, мигрировать в его поврежденные области и уменьшать неврологическое повреждение. Полученные результаты согласуются с данными G.C. Корен и соавт. [53], подтверждающими свойства СК проникать через ГЭБ и мигрировать от места введения к разным областям мозга.

Опираясь на многочисленные экспериментальные работы в области применения КК в неврологии, ряд ученых приступил к клиническим испытаниям такого метода клеточной терапии. К.-S. Kang и соавт. [51] описали случай восстановления моторной функции (ходьбы) после трансплантации клеток КК парализованной женщине с 17-летней травмой спинного мозга. В результате наблюдения за неврологическими пациентами на протяжении 1–12 месяцев ученые установили, что введение клеток КК хорошо переносится и не вызывает острых или отдаленных нежелательных реакций [15, 18]. У большинства пациентов разного возраста значительно снизился психоневрологический дефицит и улучшились когнитивные функции. Например, у больных с травматическими поражениями головного мозга (посттравматической энцефалопатией) отмечались стойкая тенденция к снижению

traumatic brain injuries (post-traumatic encephalopathy) showed a strong tendency to a decrease in asthenic syndrome and an increase in the level of mental activity [46]. The scores of physical activity significantly improved in patients with paresis, the speech recovered in those with aphasia [51]. In addition, a positive dynamics was revealed in about half of child patients with spastic forms of hydrocephalus and infantile cerebral palsy [51]. High indices on rigidity and functionality were noted in adults with Parkinson's disease, schizophrenia patients had the improvement of memory, learning ability and mental alertness, increased daily living activities [46]. Thus, the administration of allogeneic CB cells may be considered as a safe and efficient procedure in many pathological states, associated with neurological deficit, but further investigations, aimed to specify the ways, dosages and frequency of CB cell administration are necessary [25, 30, 46, 51, 65].

Conclusions

The findings testified to the prospects and a high therapeutic efficiency of CB cells in different neurological diseases, however, their effect was not specific and not always stipulated by neuronal differentiation. Apparently, the cord blood cell effects might be associated with the secretion by cells of paracrine trophic factors, activating neurogenesis in neural tissue, thereby contributing to appearance of new neurons, oligodendrocytes and astrocytes, suppression of apoptosis of nerve cells, and stimulation of migration of brain endogenous stem cells. This enhances the regeneration of injured structures and recovery of the lost functions occurs.

Thus, the cord blood stem cells are the unique and promising material to be used in regenerative medicine for therapy of patients with neurological diseases.

References

1. Aoki M., Yasutake M., Murohara T. Derivation of functional endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood mononuclear cells isolated by a novel cell filtration device. *Stem Cells* 2004; 22(6): 994–1002.
2. Babijchuk L.A., Zubov P.M., Ryazantsev V.V. et al. Cord blood as an alternative source of stem cells for regenerative medicine: new approaches to cryopreservation. *Bukovinian Medical Herald Journal* 2009; 13(4): 23–26.
3. Babijchuk L.A., Kudokotseva O.V., Ryazantsev V.V. New perspectives in cryopreservation of cord blood nucleated cells. *Hematology and Blood Transfusion*; 2008 (34): 17–21.
4. Babijchuk L.O., Grischenko V.I., Gurina T.M. et al. at., inventors. Way for cryopreservation of cord blood nucleated cells, including hemopoietic stem cells. Patent of Ukraine N92227. 2010 Oct 11.



проявлений астенического синдрома и повышение уровня психической активности [15]. У пациентов с парезами существенно улучшились показатели физической активности, у больных с афазией восстановилась речь [18]. Кроме того, позитивная динамика была выявлена примерно у половины пациентов детского возраста со спастическими формами гидроцефалии и детского церебрального паралича [18]. У взрослых с болезнью Паркинсона отмечены хорошие показатели по ригидности и функциональным возможностям, у пациентов с шизофренией – улучшение памяти, способности к обучаемости и концентрации внимания, повышение повседневной активности [15]. Таким образом, введение аллогенных клеток КК можно считать безопасной и эффективной процедурой при многих патологических состояниях, связанных с неврологическим дефицитом, однако необходимы дальнейшие исследования, направленные на уточнение способов, дозировок и кратности введения клеток КК [6, 7, 10, 15, 18].

Выводы

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о перспективности и высокой терапевтической эффективности клеток КК при различных неврологических заболеваниях, однако действие их неспецифично и не всегда обусловлено нейрональной дифференцировкой. По-видимому, эффекты клеток кордовой крови могут быть связаны с секрецией клетками паракринных трофических факторов, активизирующих нейрогенез в нервной ткани, что способствует возникновению новых нейронов, олигодендроцитов и астроцитов, подавлению апоптоза нервных клеток и стимуляции миграции эндогенных стволовых клеток мозга. Благодаря этому усиливается регенерация поврежденных структур и происходит восстановление утраченных функций.

Таким образом, стволовые клетки кордовой крови являются уникальным и перспективным материалом для использования в регенеративной медицине с целью лечения пациентов с неврологическими заболеваниями.

Литература

1. Бабийчук Л.А., Зубов П.М., Рязанцев В.В. и др. Кордовая кровь – альтернативный источник стволовых клеток для регенеративной медицины: новые подходы к проблеме криоконсервирования // Буковинський мед. вісник. – 2009. – Т. 13, №4. – С. 23–26.
2. Бабийчук Л.А., Кудокоцева О.В., Рязанцев В.В. и др. Новые перспективы в криоконсервировании ядродержащих клеток кордовой крови: Міжвідомчий збірник // Гематологія і переливання крові. – 2008. – №34. – С. 17–21.
3. Babijchuk L.V., Babijchuk V.G., Sirotenko L.A. et al. Effect of cryopreserved umbilical cord blood nucleated cells on homeostasis state in animals of different age groups in stress-induced arterial hypertension. *Genes and Cells* 2014; 9(4): 88–94.
4. Bachstetter A.D., Pabon M.M., Cole M.J. et al. Peripheral injection of human umbilical cord blood stimulates neurogenesis in the aged rat brain. *BMC Neuroscience* 2008; 9 (Suppl. 1): 22.
5. Barker R.A., Beaufort I. Scientific and ethical issues related to stem cell research and interventions in neurodegenerative disorders of the brain. *Prog Neurobiol* 2013; 110(1): 63–73.
6. Belous A.M., Grischenko V.I. *Cryobiology*. Kiev: Naukova Dumka; 1993.
7. Bersenev A.V. Cell transplantation: history, current state and prospects. *Cellular Transplantation and Tissue Engineering* 2005; 1(1): 49–56.
8. Bicknese A.R., Goodwin H.S., Quinn C.O. et al. Human umbilical cord blood cells can be induced to express markers for neurons and glia. *Cell Transplant* 2002; 11(3): 261–264.
9. Borlongan C.V., Hadman M., Sanberg C.D., Sanberg P.R. Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. *Stroke* 2004; 35: 2385–2389.
10. Buzanska L., Machaj E.K., Zablocka B. et al. Human cord blood-derived cells attain neuronal and glial features in vitro. *J Cell Sci* 2002; 115 (Pt. 10): 2131–2138.
11. Chang C.K., Chang C.P., Chiu W.T., Lin M.T. Prevention and repair of circulatory shock and cerebral ischemia/injury by various agents in experimental heatstroke. *Current Medicinal Chemistry* 2006; 26(13): 3145–3154.
12. Chen R., Ende N. The potential for the use of mononuclear cells from human umbilical cord blood in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis in SOD1 mice. *J Med* 2000; (31): P. 21–30.
13. Chen J., Sanberg P.R., Li Y. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke* 2001; 32(11): 2682–2688.
14. Chernyavskaya E.A. Features of autonomic and humoral regulation of heart rate in rats with alimentary obesity at the background of cord blood administration. *Heart rate variability: theoretical and applied aspects. Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation*. Cheboksary: Chuvash State Pedagogical University; 2014: 169–174.
15. Compagnucci C., Nizzardo M., Corti S. et al. In vitro neurogenesis: development and functional implications of iPSC technology. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(9): 1623–1639.
16. Cramer A.O., MacLaren R.E. Translating induced pluripotent stem cells from bench to bedside: application to retinal diseases. *Curr Gene Ther* 2013; 13(2): 139–151.
17. Ende N., Weinstein F., Chen R., Ende M. Human umbilical cord blood effect on sod mice (amyotrophic lateral sclerosis). *Life Sciences* 2000; (67): 53–59.
18. Erices A., Conget P., Minguell J.J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000; 109(1): 235–242.
19. Fan C.G., Zhang Q.J., Tang F.W. et al. Human umbilical cord blood cells express neurotrophic factors. *Neurosci Lett* 2005; 380: 322–325.
20. Fu Y.S., Shih Y.T., Cheng Y.C., Min M.Y. Transformation of human umbilical mesenchymal cells into neurons in vitro. *J Biomed Sci* 2004; (11): 652–660.
21. Gallacher L., Murdoch B., Wu D.M. et al. Isolation and characterization of human CD34(–)Lin(–) and CD34(+)Lin(–) hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7. *Blood* 2000; 95: 2813–2820.
22. Garbuzova-Davis S., Willing A.E., Zigova T. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: distribution, migration, and differentiation. *J Hematother Stem Cell Res* 2003; 12(3): 255–270.



3. Бабийчук Л.В., Бабийчук В.Г., Сиротенко Л.А. и др. Влияние криоконсервированных ядросодержащих клеток пуповинной крови на состояние гомеостаза у животных разных возрастных групп при стресс-индуцированной артериальной гипертензии // *Гены и клетки*. – 2014. – Т. 9, №4. – С. 88–94.
4. Белоус А.М., Грищенко В.И. *Криобиология*. – К.: Наук. думка, 1993. – 243 с.
5. Берсенев А.В. Клеточная трансплантология – история, современное состояние и перспективы // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2005. – Т. 1, №1. – С. 49–56.
6. Владимирская Е.Б., Майорова О.А., Румянцев С.А. и др. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками. – М.: Медпрактика, 2005. – 391 с.
7. Гольцев А.Н., Калинин Т.А. Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть 1. Характеристика гемопоэтического потенциала // *Проблемы криобиологии*. – 1998. – №1. – С. 3–24.
8. Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения // *Проблемы криобиологии*. – 2002. – №1. – С. 54–84.
9. Грищенко В.И., Сандомирский Б.П. Концепция клеточной терапии // *Проблемы криобиологии*. – 2000. – №1. – С. 3–6.
10. Исаев А.А., Мелихова В.С. Применение клеток пуповинной крови в клинической практике // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2008. – Т. 3, №1. – С. 34–43.
11. Кудокоцева О.В., Ломакин И.И., Бабийчук Г.А. Купирование фторурациловой миелодепрессии у мышей путем введения криоконсервированных препаратов кордовой крови // *Проблемы криобиологии и криомедицины*. – 2015. – Т. 25, №4. – С. 359–370.
12. Лебединец В.В., Овсянников С.Е., Останков М.В. и др. Коррекция нарушений метаболизма введением криоконсервированной кордовой крови в экспериментальной модели ишемического инсульта // *Науч. ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. – 2015. – Т. 31, №16. – С. 156–162.
13. Мартынова Ю.В., Бабийчук Л.В. Оценка нейрогуморальной регуляции сердечного ритма в динамике старения крыс на фоне повторного введения ядросодержащих клеток кордовой крови // *Вісник Луганського нац. ун-та ім. Т.Г. Шевченка. Біологічні науки*. – 2014. – №12, Ч. 1. – С. 14–22.
14. Мусина Р.А., Бекчанова Е.С., Белявский А.В. и др. Мезенхимальные стволовые клетки пуповинной крови // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. – 2007. – №1. – С. 16–20.
15. Пальцев М.А., Сухих Г.Т., Смирнов В.Н. Терапевтический потенциал стволовых клеток пуповинной крови (неврология и психиатрия) // *Рос. мед. вести*. – 2009. – Т. 14, №2. – С. 84–86.
16. Петренко А.Ю., Хунов Ю.А., Иванов Э.Н. Стволовые клетки. Свойства и перспективы клинического применения. – Луганск, 2011. – 368 с.
17. Скворцова В.И., Губский Л.В., Таирова Р.Т. и др. Применение мезенхимальных (стромальных) клеток костного мозга при экспериментальном ишемическом инсульте у крыс // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. – 2008. – №1. – С. 14–20.
18. Смирнов В.Н. Терапевтический потенциал клеток пуповинной крови при неврологических и психических заболеваниях // *Сб. докладов IV Междунар. симпозиума «Актуальные вопросы клеточных технологий»*. – М., 2011. – С. 11–17.
19. Смолянинов А.Б., Хурцилава О.Г., Тыренко В.В. и др. Современная стратегия регенеративной терапии и безопасность применения аллогенных стволовых клеток
25. Goltsev A.N., Kalinichenko T.A. Human umbilical cord blood as a source of hemopoietic cells for clinical application. Part 1. Nature of hemopoietic potential. *Problems of Cryobiology* 1998; (1): 3–24.
26. Goodwin H., Bicknese A., Chien S. et al. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7(11): 581–588.
27. Greenberg D.A., Jin K. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) and stroke. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70(10): 1753–1761.
28. Grischenko V.I., Goltsev A.N. Transplantation of the products of embryofetoplacental complex. From understanding of mechanism of the effect to increasing the efficiency of application. *Problems of Cryobiology* 2002; (1): 54–84.
29. Grischenko V.I., Sandomirsky B.P. Concept of cell therapy. *Problems of Cryobiology* 2000; (1): 3–6.
30. Isayev A.A., Melikhova V.S. Cord blood cell application in clinical practice. *Cellular Transplantation and Tissue Engineering* 2008; 3(1): 34–43.
31. Jang Y.K., Park J.J., Lee M.C. et al. Retinoic acid-mediated induction of neurons and glial cells from human umbilical cord-derived hematopoietic stem cells. *J Neurosci Res* 2004; 75(4): 573–584.
32. Jeong J.A., Gang E.J., Hong S.H. et al. Rapid neural differentiation of human cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Neuroreport* 2004; 15(11): 731–734.
33. Kang K.-S., Kim S.W., Oh Y.H. et al. A 37-year-old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study. *Cytherapy* 2005; (7): 368–373.
34. Kern S., Eichler H., Stoeve J. et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006; 24(5): 1294–1301.
35. Kopen G.C., Prockop D.J., Phinney D.G. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; (96): 10711–10716.
36. Kudokotseva O.V., Lomakin I.I., Babijchuk G.A. Cryopreserved cord blood products mitigate fluorouracil myelodepression in mice. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine* 2015; 25(4): 359–370.
37. Lebedinets V.V., Ovsyannikov S.E., Ostankov M.V. et al. Correction of metabolic disorders by introduction of cryopreserved cord blood in experimental model of ischemic stroke. *Belgorod State University Scientific Bulletin: Medicine Pharmacy* 2015; 31(16): 156–162.
38. Lee O.K., Kuo T.K., Chenet W.-M. et al. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004; 103(5): 1669–1675.
39. Lindvall O., Backlund E.O., Farde L. et al. Transplantation in Parkinson's disease: two cases of adrenal medullary grafts to the putamen. *Ann Neeurol* 1987; (22): 457–463.
40. Lu D., Sanberg P.R., Mahmood A. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury. *Cell Transplant* 2002; (11): 275–281.
41. Lu C.Z., Xiao B.G. G-CSF and neuroprotection: a therapeutic perspective in cerebral ischaemia. *Biochem Soc Trans* 2006; 34(6): 1327–1333.
42. Martynova Yu.V., Babijchuk L.V. Evaluation of neurohumoral regulation of heart rate in rat aging dynamics at the background of repeated administration of cord blood nucleated cells. *Journal of Luhansk Taras Shevchenko National University (Biological sci.)* 2014; 12(Part 1): 14–22.
43. Musina R.A., Bekchanova E.S., Belyavsky A.V. et al. Mesenchymal stem cells of umbilical blood. *Cell Technologies in Biology and Medicine* 2007; (1): 16–20.
44. Newman M.B., Willing A.E., Manressa J.J. et al. Cytokines produced by cultured human umbilical cord blood (HUCB) cells:



- пуповинной крови при нейродегенеративных заболеваниях // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 6, №4. – С. 14–20.
20. Соколова И.Б., Федотова О.Р., Зинькова Н.Н. и др. Эффект трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на когнитивную функцию у крыс с инсультом // Бюл. эксперимент. биол. мед. – 2006. – Т. 142, №4. – С. 511–514.
 21. Соловьева А.О., Повещенко А.Ф., Повещенко О.В. и др. Сравнительное исследование миграции и распределения донорских клеток котного мозга и селезенки в лимфоидные и нелимофоидные органы в разные сроки после трансплантации *in vivo* у мышей СВА // Бюл. Сибирского отделения Рос. АМН. – 2013. – Т. 33, №4. – С. 35–41.
 22. Сурков К.Г., Белова Л.А., Красняков В.К. Экспериментальное исследование антиишемического эффекта препарата стволовых клеток пуповинной крови: тезисы докладов Британско-российского совещания о сотрудничестве с Европейской комиссией «Стволовые клетки: законодательство, исследования и инновации. Международные перспективы сотрудничества» (15 марта 2007 г.) [электронный документ] // [веб-сайт] <http://www.cbio.ru/modules/mydownloads/visit.php?lid=73>.
 23. Цуцаева А.А., Грищенко В.И., Кудокоцева О.В. и др. Криоконсервирование гемопоэтических стволовых клеток из кордовой крови человека // Проблемы криобиологии. – 2000. – №1. – С. 59–63.
 24. Цуцаева А.А., Грищенко В.И., Цыганенко А.Я. и др. Опыт клинического применения препарата «Гемокорд» // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2005. – №3. – С. 104–107.
 25. Цыб А.Ф., Рощаль Л.М., Юшаков В.В. и др. Морфофункциональное изучение терапевтического эффекта аутологичных мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальном диффузном поражении головного мозга у крыс // Бюл. эксперимент. биол. мед. – 2006. – Т. 142, №1. – С. 140–147.
 26. Цымбалюк В.И., Медведев В.В. Нейрогенные стволовые клетки. – К: Коваль, 2005. – 596 с.
 27. Чернявская Е.А. Особенности состояния вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением на фоне введения кордовой крови // Вариабельность сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты: материалы всерос. заоч. науч.-практ. конференции с международным участием. – Чебоксары: Чуваш. гос. пед. ун-т, 2014. – С. 169–174.
 28. Ярыгин К.Н., Семченко В.В., Ереинев С.И. и др. Клеточные технологии в терапии болезней нервной системы. – Екатеринбург, 2015. – 360 с.
 29. Пат. № 92227, Україна, МПК7 А01N 1/02. Спосіб криоконсервування ядровмісних клітин кордової крові, у тому числі гемопоетичних стовбурових клітин / Л.О. Бабійчук, В.І. Грищенко, Т.М. Гуріна та ін.; заявник та патентовласник Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України. – № 2008 14009; заявл. 05.12.2008, опубл. 11.10.2010, Бюл. №19.
 30. Aoki M., Yasutake M., Murohara T. Derivation of functional endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood mononuclear cells isolated by a novel cell filtration device // Stem Cells. – 2004. – Vol. 22, №6. – P. 994–1002.
 31. Bachstetter A.D., Pabon M.M., Cole M.J. et al. Peripheral injection of human umbilical cord blood stimulates neurogenesis in the aged rat brain // BMC Neuroscience. – 2008. – №9. – P. 22.
 32. Barker R.A., Beaufort I. Scientific and ethical issues related to stem cell research and interventions in neurodegenerative disorders of the brain // Prog. Neurobiol. – 2013. – Vol. 110, №1. – P. 63–73.
 33. Bicknese A.R., Goodwin H.S., Quinn C.O. et al. Human umbilical cord blood cells can be induced to express markers for neurons and glia // Cell Transplant. – 2002. – Vol. 11, №3. – P. 261–264.
 - implications for brain repair. Exp Neurol 2006; 199(1): 201–208.
 45. Nikolic W.V., Hou H., Town T. et al. Peripherally administered human umbilical cord blood cells reduce parenchymal and vascular beta-amyloid deposits in Alzheimer mice. Stem Cells Develop 2008; 17(1): 1–17.
 46. Paltsev M.A., Sukhikh G.T., Smirnov V.N. Therapeutic potential of cord blood stem cells (neurology and psychiatry). Russian Medical News 2009; 14(2): 84–86.
 47. Perdikogianni C., Dimitriou H., Stiakaki E. Could cord blood be a source of mesenchymal stromal cells for clinical use? Cytotherapy 2008; 10(5): 452–459.
 48. Petrenko A.Yu., Khunov Yu.A., Ivanov E.N. Stem cells. Features and prospects for clinical application. Lugansk; 2011.
 49. Romanov Y.A., Svintsitskaya V.A., Smirnov V.N. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. Stem Cells 2003; 21(1): 105–110.
 50. Skvortsova V.I., Gubsky L.V., Tairova R.T. et al. Use of mesenchymal (stromal) bone marrow cells in experimental ischemic stroke in rats. Cell Technologies in Biology and Medicine 2008; (1): 14–20.
 51. Smirnov V.N. Therapeutic potential of cord blood cells in neurological and psychiatric diseases. Proceedings of the IV International Symposium on Actual Issues in Cellular Technologies. Moscow; 2011: p. 11–17.
 52. Smolyaninov A.B., Khurtsilava O.G., Tyrenko V.V. et al. Current strategy in regenerative therapy and application safety of allogeneic stem cells of cord blood in neurodegenerative diseases. Cellular Transplantation and Tissue Engineering 2011; 6(4): 14–20.
 53. Sokolova I.B., Fedotova O.R., Zinkova N.N. et al. Effect of mesenchymal stem cell transplantation on cognitive function in rats with stroke. Bull Exp Biol Med 2006; 142(4): 511–514.
 54. Solovieva A.O., Poveschenko A.F., Poveschenko O.B. et al. Comparative study of migration and distribution of bone marrow and spleen donor cells into lymphoid and non-lymphoid organs in different terms after transplantation *in vivo* in CBA mice. Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences 2013; 33(4): 35–41.
 55. Surkov K.G., Belova L.A., Krasnyakov V.K. Experimental study of anti-ischemic effect of cord blood stem cell preparations. Proceeding of British-Russian Meeting on Cooperation with the European Commission "Stem Cells: Policy, Research and Innovation. International Prospects of Cooperation" (2007 March 15). Available from: URL: <http://www.cbio.ru/modules/mydownloads/visit.php?lid=73>.
 56. Tsutsayeva A.A., Grischenko V.I., Kudokotseva O.V. et al. Cryopreservation of hematopoietic stem cells from human cord blood. Problems of Cryobiology 2000; (1): 59–63.
 57. Tsutsayeva A.A., Grischenko V.I., Tsyganenko A.Ya. et al. Experience of clinical application of Hemovord preparation. Eksp Klin Med 2005; (3): 104–107.
 58. Tsyb A.F., Roshal L.M., Yushakov V.V. et al. The morphofunctional study of therapeutic effect of autologous mesenchymal stem cells in experimental diffuse brain damage in rats. Bull Exp Biol Med 2006; 142(1): 140–147.
 59. Tsybalyuk V.I., Medvedev V.V. Neurogenic stem cells. Kiev: Koval; 2005.
 60. Sanchez-Ramos J.R., Song S., Kamath S.G. et al. Expression of neural markers in human umbilical cord blood. Exp Neurol 2001; 171(1): 109–115.
 61. Sun T., Ma Q.-H. Repairing neural injuries using human umbilical cord blood. Mol Neurobiol 2013; 47(3): 938–945.
 62. Taguchi A., Soma T., Tanaka H. et al. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. J Clin Invest 2004; 114(2): 330–338.
 63. Uccelli A., Prockop D.J., Why should mesenchymal stem cells (MSCs) cure autoimmune diseases? Curr Opin Immunol 2010; 22(6): 768–774.

34. Borlongan C.V., Hadman M., Sanberg C.D., Sanberg P.R. Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke // *Stroke*. – 2004. – Vol. 35. – P. 2385–2389.
35. Buzanska L., Machaj E.K., Zablocka B. et al. Human cord blood-derived cells attain neuronal and glial features in vitro // *J. Cell Sci.* – 2002. – Vol. 115, Pt. 10. – P. 2131–2138.
36. Chang C.K., Chang C.P., Chiu W.T., Lin M.T. Prevention and repair of circulatory shock and cerebral ischemia/injury by various agents in experimental heatstroke // *Curr. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 26, №13. – P. 3145–3154.
37. Chen R., Ende N. The potential for the use of mononuclear cells from human umbilical cord blood in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis in SOD1 mice // *J. Med.* – 2000. – №31. – P. 21–30.
38. Chen J., Sanberg P.R., Li Y. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats // *Stroke*. – 2001. – Vol. 32, №11. – P. 2682–2688.
39. Compagnucci C., Nizzardo M., Corti S. et al. In vitro neurogenesis: development and functional implications of iPSC technology // *Cell Mol Life Sci.* – 2014. – Vol. 71, №9. – P. 1623–1639.
40. Cramer A.O., MacLaren R.E. Translating induced pluripotent stem cells from bench to bedside: application to retinal diseases // *Curr Gene Ther.* – 2013. – Vol. 13, №2. – P. 139–151.
41. Ende N., Weinstein F., Chen R., Ende M. Human umbilical cord blood effect on sod mice (amyotrophic lateral sclerosis) // *Life Sciences*. – 2000. – №67. – P. 53–59.
42. Erices A., Conget P., Minguell J.J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood // *Br. J. Haematol.* – 2000. – Vol. 109, №1. – P. 235–242.
43. Fan C.G., Zhang Q.J., Tang F.W. et al. Human umbilical cord blood cells express neurotrophic factors // *Neurosci. Lett.* – 2005. – Vol. 380. – P. 322–325.
44. Fu Y.S., Shih Y.T., Cheng Y.C., Min M.Y. Transformation of human umbilical mesenchymal cells into neurons in vitro // *J. Biomed. Sci.* – 2004. – №11. – P. 652–660.
45. Gallacher L., Murdoch B., Wu D.M. et al. Isolation and characterization of human CD34(–)Lin(–) and CD34(+)Lin(–) hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7 // *Blood*. – 2000. – Vol. 95. – P. 2813–2820.
46. Garbuzova-Davis S., Willing A.E., Zigova T. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: distribution, migration, and differentiation // *J. Hematother. Stem Cell Res.* – 2003. – Vol. 12, №3. – P. 255–270.
47. Goodwin H., Bicknese A., Chien S. et al. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2001. – Vol. 7, №11. – P. 581–588.
48. Greenberg D.A., Jin K. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) and stroke // *Cell Mol. Life Sci.* – 2013. – Vol. 70, №10. – P. 1753–1761.
49. Jang Y.K., Park J.J., Lee M.C. et al. Retinoic acid-mediated induction of neurons and glial cells from human umbilical cord-derived hematopoietic stem cells // *J. Neurosci. Res.* – 2004. – Vol. 75, №4. – P. 573–584.
50. Jeong J.A., Gang E.J., Hong S.H. et al. Rapid neural differentiation of human cord blood-derived mesenchymal stem cells // *Neuroreport*. – 2004. – Vol. 15, №11. – P. 1731–1734.
51. Kang K.-S., Kim S.W., Oh Y.H. et al. A 37-year-old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study // *Cytherapy*. – 2005. – №7. – P. 368–373.
52. Kern S., Eichler H., Stoeve J. et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue // *Stem Cells*. – 2006. – Vol. 24, №5. – P. 1294–1301.
64. Vendrame M., Cassady J., Newcomb J. et al. Infusion of human umbilical cord blood cells in a rat model of stroke dose dependently rescues behavioral deficits and reduces infarct volume. *Stroke* 2006; (35): 2390–2395.
65. Vladimirskaya E.B., Mayorova O.A., Rumyantsev S.A. et al. Biological grounds and prospects of stem cell therapy. Moscow: Medpraktika; 2005.
66. Willing A.E., Lixian J., Milliken M. et al. Intravenous versus intraatrial cord blood administration in a rodent model of stroke. *J Neurosci Res* 2003; 73(3): 296–307.
67. Xiao J., Iman Z., Motooka Y., Low W.C. Transplantation of a novel cell line population of umbilical cord blood stem cells ameliorates neurological deficits associated with ischemic brain injury. *Stem Cells Dev* 2005; 14(6): 722–733.
68. Yarygin K.N., Semchenko V.V., Ereniyev S.I. et al. Cell technology in therapy of nervous diseases. Yekaterinburg; 2015.
69. Yi T., Song S.U. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res* 2012; 35(2): 213–221.
70. Zarrabi M., Mousavi S.H., Abroun S., Sadeghi B. Potential uses for cord blood mesenchymal stem cells. *Cell J (Yakhteh)* 2014; 15(4): 274–281.
71. Zigova T., Song S., Willing A.E. et al. Human umbilical cord blood cells express neural antigens after transplantation into the developing rat brain. *Cell Transplant* 2002; 11(3): 265–274.



53. Kopen G.C., Prockop D.J., Phinney D.G. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – №96. – P. 10711–10716.
54. Lee O.K., Kuo T. K., Chenet W.-M. et al. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood // *Blood.* – 2004. – Vol. 103, №5. – P. 1669–1675.
55. Lindvall O., Backlund E.O., Farde L. et al. Transplantation in Parkinson's disease: two cases of adrenal medullary grafts to the putamen // *Ann. Neurol.* – 1987. – №22. – P. 457–463.
56. Lu D., Sanberg P.R., Mahmood A. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury // *Cell Transplant.* – 2002. – №11. – P. 275–281.
57. Lu C.Z., Xiao B.G. G-CSF and neuroprotection: a therapeutic perspective in cerebral ischaemia // *Biochem. Soc. Trans.* – 2006. – Vol. 34, №6. – P. 1327–1333.
58. Newman M.B., Willing A.E., Manresa J.J. et al. Cytokines produced by cultured human umbilical cord blood (HUCB) cells: implications for brain repair // *Experimental Neurology.* – 2006. – Vol. 199, №1. – P. 201–208.
59. Nikolic W.V., Hou H., Town T. et al. Peripherally administered human umbilical cord blood cells reduce parenchymal and vascular beta-amyloid deposits in Alzheimer mice // *Stem Cells Dev.* – 2008. – Vol. 17, №1. – P. 1–17.
60. Perdikiogianni C., Dimitriou H., Stiakaki E. Could cord blood be a source of mesenchymal stromal cells for clinical use? // *Cytherapy.* – 2008. – Vol. 10, №5. – P. 452–459.
61. Romanov Y.A., Svintsitskaya V.A., Smirnov V.N. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord // *Stem Cells* – 2003. – Vol. 21, №1. – P. 105–110.
62. Sanchez-Ramos J.R., Song S., Kamath S.G. et al. Expression of neural markers in human umbilical cord blood // *Exp Neurol.* – 2001. – Vol. 171, №1. – P. 109–115.
63. Sun T., Ma Q.-H. Repairing neural injuries using human umbilical cord blood // *Mol. Neurobiol.* – 2013. – Vol. 47, №3. – P. 938–945.
64. Taguchi A., Soma T., Tanaka H. et al. Administration of CD34⁺ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model // *J. Clin. Invest.* – 2004. – Vol. 114, №2. – P. 330–338.
65. Uccelli A., Prockop D.J., Why should mesenchymal stem cells (MSCs) cure autoimmune diseases? // *Curr. Opin. Immunol.* – 2010. – Vol. 22, №6. – P. 768–774.
66. Vendrame M., Cassady J., Newcomb J. et al. Infusion of human umbilical cord blood cells in a rat model of stroke dose-dependently rescues behavioral deficits and reduces infarct volume // *Stroke.* – 2006. – №35. – P. 2390–2395.
67. Willing A.E., Lixian J., Milliken M. et al. Intravenous versus intrastriatal cord blood administration in a rodent model of stroke // *J. Neurosci. Res.* – 2003. – Vol. 73, №3. – P. 296–307.
68. Xiao J., Iman Z., Motooka Y., Low W.C. Transplantation of a novel cell line population of umbilical cord blood stem cells ameliorates neurological deficits associated with ischemic brain injury // *Stem Cells Dev.* – 2005. – Vol. 14, №6. – P. 722–733.
69. Yi T., Song S.U. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications // *Arch. Pharm. Res.* – 2012. – Vol. 35, №2. – P. 213–221.
70. Zarrabi M., Mousavi S.H., Abroun S., Sadeghi B. Potential uses for cord blood mesenchymal stem cells // *Cell J. (Yakhteh).* – 2014. – Vol. 15, №4. – P. 274–281.
71. Zigova T., Song S., Willing A.E. et al. Human umbilical cord blood cells express neural antigens after transplantation into the developing rat brain // *Cell Transplant.* – 2002. – Vol. 11, №3. – P. 265–274.