

## **ИНТРАНАЗАЛЬНЫЕ ИНГАЛЯЦИИ БИОАКТИВНЫХ ФАКТОРОВ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ М2-МАКРОФАГАМИ, В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ОРГАНИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

**Останин А.А., Давыдова М.Н., Старостина Н.М., Сахно Л.В.,  
Шевела Е.Я., Черных Е.Р.**

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,  
г. Новосибирск, Россия*

**Резюме.** Цель исследования — оценить безопасность и клиническую эффективность ингаляционной иммунотерапии на основе интраназального введения биоактивных факторов, продуцируемых М2-макрофагами, при лечении пациентов с органическими поражениями головного мозга (ОПМ).

В исследование, которое проводили по протоколу NCT02957123 ([www.ClinicalTrials.gov](http://www.ClinicalTrials.gov)), были включены 30 больных (10 мужчин и 20 женщин в возрасте от 18 до 81; Me 62,5 лет) с ОПМ различного генеза. Оценку неврологического статуса и уровня 32 цитокинов в сыворотке крови больных проводили до начала курса ингаляционной иммунотерапии и через 2-3 дня после его завершения.

Курсовое лечение с использованием интраназальных ингаляций кондиционных сред М2-макрофагов (по 2 мл 1 раз в сутки в течение 28-30 дней) было безопасным и хорошо переносимым. Ни у одного из 30 пролеченных больных не было отмечено тяжелых нежелательных явлений и выраженных побочных реакций. Проведение ингаляционной иммунотерапии уже через 1 мес. после начала лечения сопровождалось положительной динамикой показателей неврологического статуса. При этом у 67% (20/30) больных регистрировался выраженный клинический ответ, который проявлялся коррекцией по всем используемым шкалам и вопросам. Достигнутый эффект сохранялся также и через 6 мес. наблюдения. У остальных пациентов (33%, 10/30) отмечался умеренный клинический ответ в виде коррекции баллов по отдельным шкалам. В целом по группе пролеченных больных (n = 30) отмечалось: 1) снижение на 43% уровня тревоги и депрессии (по шкале HADS,  $p_U = 0,0008$ ); 2) увеличение на 25% общей двигательной активности (устойчивости и походки,  $p_U = 0,0001$ ); 3) коррекция когнитивных функций (MoCa тест,  $p_U = 0,007$ ); 4) сокращение количества и уменьшение интенсивности симптомов болезни на 52% ( $p_U = 0,0001$ ). Установлено, что развитие выраженного клинического ответа на проводимую иммунотерапию сопряжено с коррекцией/нормализацией уровня фактора роста гепатоцитов (HGF) в сыворотке крови.

Ингаляционная иммунотерапия на основе интраназального введения биоактивных факторов, продуцируемых М2-макрофагами, позволяет повысить эффективность неврологического и функционального восстановления больных с органическими поражениями головного мозга.

*Ключевые слова:* макрофаги 2 типа, цитокины, интраназальные ингаляции, функциональное восстановление, органические поражения мозга

### **Адрес для переписки:**

Останин Александр Анатольевич  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фундаментальной и клинической иммунологии»  
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.  
Тел.: 8 (383) 236-03-29.  
Факс: 8 (383) 222-70-28.  
E-mail: [ostanin62@mail.ru](mailto:ostanin62@mail.ru); [ct\\_lab@mail.ru](mailto:ct_lab@mail.ru)

### **Address for correspondence:**

Ostanin Alexander A.  
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology  
630099, Russian Federation, Novosibirsk,  
Yadrintsevskaya str., 14.  
Phone: 7 (383) 236-03-29.  
Fax: 7 (383) 222-70-28.  
E-mail: [ostanin62@mail.ru](mailto:ostanin62@mail.ru); [ct\\_lab@mail.ru](mailto:ct_lab@mail.ru)

### **Образец цитирования:**

А.А. Останин, М.Н. Давыдова, Н.М. Старостина,  
Л.В. Сахно, Е.Я. Шевела, Е.Р. Черных «Интраназальные  
ингаляции биоактивных факторов, продуцируемых  
М2-макрофагами, в лечении больных с органическими  
поражениями головного мозга» // Медицинская  
иммунология, 2018. Т. 20, № 4. С. 577-588.  
doi: 10.15789/1563-0625-2018-4-577-588

© Останин А.А. и соавт., 2018

### **For citation:**

A.A. Ostanin, M.N. Davydova, N.M. Starostina, L.V. Sakhno,  
E.Ya. Shevela, E.R. Chernykh "Intranasal inhalations of bioactive  
factors produced by M2 macrophages in the treatment of patients  
with organic brain syndrome", Medical Immunology (Russia)/  
Meditsinskaya Immunologiya, 2018, Vol. 20, no. 4, pp. 577-588.  
doi: 10.15789/1563-0625-2018-4-577-588

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-4-577-588

# INTRANASAL INHALATIONS OF BIOACTIVE FACTORS PRODUCED BY M2 MACROPHAGES IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH ORGANIC BRAIN SYNDROME

Ostanin A.A., Davydova M.N., Starostina N.M., Sakhno L.V., Shevela E.Ya., Chernykh E.R.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Abstract.** The aim of present study was to evaluate safety and clinical efficacy of inhalatory immunotherapy based on intranasal delivery of bioactive factors produced by M2 macrophages applied for treatment of patients with organic brain syndrome (OBS). Materials and methods. The study under the NCT02957123 protocol ([www.ClinicalTrials.gov](http://www.ClinicalTrials.gov)) included thirty patients with OBS of various genesis (10 men and 20 women aged 18 to 81; Me, 62.5 years). Neurological assessment and the levels of 32 cytokines in the blood serum of patients were evaluated before and 2-3 days after completion of inhalation immunotherapy.

Intranasal inhalations of cell-free culture medium of M2 macrophages (2 mL, once a day for 28-30 days) were safe and well tolerated. None of 30 treated patients had severe adverse events and serious treatment-related side reactions. One month after starting the inhalations, a positive dynamics in neurological status was noted in all the patients. A marked clinical response was documented in twenty out of thirty patients (67%), which manifested as improvement, according to all scales and questionnaires. The neurological improvement was not reversed over 6 months of follow-up period. In other ten patients (33%), a moderate clinical response was shown as improvement of individual scores. The positive changes were as follows: 1) a 43% decrease in anxiety and depression scores (according to HADS scale,  $p_U = 0.0008$ ); 2) an increase of total motor activity (stability and gait) by 25%,  $p_U = 0.0001$ ); 3) correction of cognitive functions (MoCa test,  $p_U = 0.007$ ); 4) reduced number and intensity of the disease symptoms by 52% ( $p_U = 0.0001$ ). This marked clinical response to immunotherapy is shown to be associated with correction/normalization of serum hepatocyte growth factor (HGF) level. Conclusion. Inhalation immunotherapy based on intranasal delivery of bioactive factors produced by M2 macrophages can improve neurological and functional recovery in patients with organic brain syndrome.

*Keywords:* M2 type macrophages, cytokines, intranasal inhalations, functional recovery, organic brain syndrome

## Введение

Известно, что макрофаги играют центральную роль в заживлении различных тканей, в том числе в репарации нервной ткани [12, 18, 19, 31]. Однако биологические эффекты макрофагов могут существенно различаться в силу гетерогенности этой клеточной популяции. Наряду с «классическими» макрофагами 1-го типа (M1) описаны также различные типы альтернативно-активированных макрофагов 2-го типа (M2) [14].

Проведенный нами сравнительный анализ макрофагов 1 и 2 типа показал, что M2 характеризуются более низкой антигенпрезентирующей и провоспалительной активностью и при этом обладают более выраженным регенераторным потенциалом за счет высокого уровня продукции целого комплекса нейротрофических, нейропротективных и ангиогенных факторов [5, 24]. M2-макрофаги отличаются более низким уровнем продукции провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6, IL-18) и хемокинов (IL-8, MCP-1), при этом активно секретируют эритропоэтин (EPO), а также фактор роста эндотелия

сосудов (VEGF), необходимый для ангио/васкулогенеза; инсулиноподобный ростовой фактор-1 (IGF-1), индуцирующий пролиферацию/дифференцировку нейронов, а также астроцитов и олигодендроцитов; ряд других ростовых факторов (BDNF, EGF, FGF-basic), которые могут повышать выживаемость, усиливать пролиферацию, дифференцировку/деление астроцитов, олигодендроцитов, нейронов и эндотелиальных клеток, а также стимулировать эндогенные, в том числе и нейральные прогениторные, клетки. Проведенные нами пилотные исследования M2-макрофагов показали безопасность и клиническую эффективность этих клеток при тяжелых формах ДЦП [6, 7] и у пациентов, перенесших церебральный инсульт [8].

Важно отметить, что наличие гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) существенно ограничивает попадание клеток и цитокинов в паренхиму мозговой ткани при их системном (внутривенном) введении. В этой связи большой интерес вызывает интраназальный путь доставки лекарственных препаратов, включая цитокины. Действительно, интраназальный путь введения

позволяет добиться быстрого и эффективного попадания различных субстанций в ткани головного и спинного мозга [11]. В исследованиях на крысах было показано, что при интраназальном введении нейротрофических факторов и эритропоэтина эти цитокины проникают в ткани мозга через ольфакторный и тригеминальный пути, минуя ГЭБ [1, 26, 33]. Возможность попадания цитокинов в мозговую ткань при интраназальном введении показана также у приматов [27]. Более того, проникновение субстанций (например, инсулина) из носовой полости в ткани мозга продемонстрировано у человека [3, 16].

Поскольку кондиционные среды М2-клеток содержат широкий спектр нейротрофических, проангиогенных и иммунорегуляторных цитокинов, была сформулирована рабочая гипотеза, что интраназальное введение биоактивных факторов, продуцируемых М2-макрофагами, может стимулировать неврологическое восстановление. **Целью исследования** явилась оценка безопасности и клинической эффективности предложенного подхода при лечении пациентов с органическими поражениями мозга (ОПМ) различного генеза. Кроме того, планировалось оценить, влияет ли ингаляционная иммунотерапия на профиль цитокинов в сыворотке крови больных.

## Материалы и методы

Набор пациентов в исследование проводили в соответствии с протоколом (NCT02957123, [www.ClinicalTrials.gov](http://www.ClinicalTrials.gov)), одобренным локальным этическим комитетом НИИФКИ.

В исследование были включены 30 больных (10 мужчин и 20 женщин в возрасте от 18 до 81; Me 62,5 лет) с ОПМ различного генеза. Из них 12 пациентов с последствиями ишемического (n = 10) и геморрагического (n = 2) инсульта; 15 пациентов с хронической ишемией головного мозга (ХИМ) II степени и по одному больному с последствиями перинатальной патологии ЦНС и черепно-мозговой травмы, а также с энцефалопатией сложного генеза.

Критериями включения больных в исследование являлись: 1) возраст от 18 лет и старше; 2) наличие неврологических нарушений (двигательные, когнитивные расстройства на фоне травматических, сосудистых, нейродегенеративных и других поражений головного мозга), верифицированных клинически и по результатам МРТ; 3) наличие письменного информированного согласия пациента или ближайших родственников. Критерии исключения: 1) психические расстройства; 2) глубокая деменция; 3) наличие судорожного синдрома; 4) выраженная декомпенсированная сердечно-сосудистая, дыхательная, печеночная или почечная недостаточность; 5) ВИЧ или неконтролируемая бактериальная,

грибковая или вирусная инфекция; 6) беременность; 7) онкология; 8) непереносимость гентамицина и/или множественная лекарственная аллергия.

Обследование больных ОПМ, включая оценку неврологического статуса и получение образцов сыворотки крови для анализа цитокинового профиля, проводили до начала курса ингаляционной иммунотерапии и через 2-3 дня после его завершения. Через 6 мес. наблюдения оценивали только неврологический статус.

Первичной конечной точкой являлась оценка безопасности, включающая анализ тяжелых нежелательных явлений и побочных реакций (аллергические, токсические, воспалительные реакции; неврологическое ухудшение, судорожный синдром) на фоне ингаляционного применения цитокинов. Вторичной конечной точкой являлось изменение неврологического статуса, которое оценивалось врачом-неврологом, в том числе с привлечением различных шкал и вопросников. В качестве основных были использованы: шкала субъективной оценки клинических симптомов (СОКС); госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS); шкала двигательной активности (ШДА) и Монреальская шкала оценки когнитивных функций (MoCa).

СОКС является 5-балльной рейтинговой шкалой со стандартизированными критериями субъективной оценки выраженности (0 – нет; 1 – легкая; 2 – умеренная; 3 – выраженная; 4 – интенсивная) 15 различных симптомов заболевания (головная боль, головокружение, нарушение походки, речевые, зрительные нарушения, тремор и т.д.) в диапазоне от 0 до 60 баллов.

Шкала HADS позволяет диагностировать отсутствие достоверно выраженных симптомов тревоги/депрессии (на уровне 0-7 баллов); субклиническую (8-10 баллов) и клиническую (от 11 баллов и выше) форму тревоги/депрессии.

ШДА предназначена для оценки показателей, характеризующих устойчивость (0-24 балла) и походку (0-16 баллов). Максимальный для каждого задания балл соответствует норме, 0 – грубому нарушению. Степень нарушения общей двигательной активности (суммарный бал по субшкалам устойчивости и походки) определяется как значительная – в интервале 0-20; умеренная – 21-33; легкая – 34-38 баллов. Об отсутствии нарушений свидетельствуют 39-40 баллов.

С помощью MoCa-теста оцениваются когнитивные функции – «зрительно-конструктивные навыки», «называние», «внимание», «речь», «абстрактное мышление», «отсроченное воспроизведение заученных слов», «ориентация в месте и времени». 26-30 баллов – норма; 19-25 – умеренное когнитивное расстройство; 11-21 – деменция. В случае перекрытия баллов (19-21)

диагноз требует уточнения на основании клинической картины заболевания.

#### Получение кондиционных сред М2-макрофагов

М2-макрофаги генерировали из прилипающей фракции мононуклеарных клеток (МНК), как описано ранее [5, 24]. МНК выделяли стандартно из гепаринизированной венозной крови (150–200 мл) пациента и инкубировали ( $3-5 \times 10^6$ /мл) в течение 18–24 ч при 37 °С и 5% CO<sub>2</sub> во флаконах (150 см<sup>2</sup>, TPP) в среде RPMI-1640, содержащей 0,05 mM 2-меркапэтанола, 2 mM пирувата натрия, 0,3 mg/ml L-глутамина, 1% раствора незаменимых аминокислот, 100 µg/ml гентамицина, 2% аутоплазмы и рекомбинантный GM-CSF человека (rhGM-CSF, 50 нг/мл, R&D Systems). Затем фракцию неприкрепившихся к пластику клеток удаляли, а фракцию адгезивных клеток ( $\approx 90-95\%$  CD14<sup>+</sup> моноцитов) продолжали культивировать в среде RPMI-1640 (в том же составе) в течение 7 сут. Кондиционную среду полученных таким образом М2-макрофагов собирали в стерильные флаконы (2 мл/флакон, n = 28–30), которые маркировали и хранили при температуре -20 °С.

#### Ингаляционная иммунотерапия

Кондиционную среду аутологичных М2-макрофагов размораживали при комнатной температуре и использовали в виде мелкодисперсного аэрозоля интраназально с помощью компрессорного ингалятора (небулайзера) по 2 мл 1 раз в сутки курсом в течение от 28 до 30 дней. Первые 2–3 ингаляции проводили под контролем врача. Пациента обучали обращению с небулайзером и правильному дыханию, и последующее лечение пациент проводил самостоятельно в амбулаторном режиме.

#### Оценка цитокинового профиля в сыворотке крови

Забор венозной крови проводили по общепринятым правилам в вакуумные пробирки Vacutest (№ 11030, Clot activator, 9 мл, Vacutest Kima, Италия). В образцах сыворотки крови определяли концентрацию цитокинов методом проточной флуориметрии на 2-лучевом лазерном автоматизированном анализаторе (Bio-Plex Protein Assay System, Bio-Rad, США) с использованием коммерческих Human Cytokine 21- и 8-plex тест-систем в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Панель 21-plex включала IL-1 $\alpha$ , IL-2R $\alpha$ , IL-3, IL-12p40, IL-16, IL-18, STACK (cutaneous T cell-attracting chemokine, CCL27), GRO- $\alpha$  (growth-regulated oncogene- $\alpha$ , CXCL1), HGF (hepatocyte growth factor), IFN $\alpha$ 2, LIF (leukemia inhibitory factor), MCP-3 (monocyte chemotactic protein-3, CCL7), M-CSF (macrophage colony-stimulating factor), MIF (macrophage migration inhibitory factor), MIG (monokine induced by IFN $\gamma$ , CXCL9),  $\beta$ -NGF ( $\beta$ -nerve growth

factor), SCF (stem cell factor), SCGF- $\beta$  (stem cell growth factor- $\beta$ ), SDF-1 $\alpha$  (stromal cell-derived factor 1 $\alpha$ , CXCL12a), TNF $\beta$  (tumor necrosis factor- $\beta$ ), и TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand). Панель 8-plex включала IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ . Дополнительно в исследуемых образцах сыворотки методом иммуноферментного анализа определяли концентрацию MCP-1 (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск), BDNF (brain-derived neurotrophic factor; Abcam) и общего IGF-1 (insulin-like growth factor-1; R&D Systems).

С целью корректной оценки профиля сывороточных цитокинов и определения соответствующей возрастной нормы была подобрана контрольная, референсная группа из 10 условно здоровых добровольцев из работающего персонала Института. Группа контроля была сопоставима с больными по полу (6 мужчин и 4 женщины,  $r_{TMF} = 0,44$ ), возрасту (от 51 до 67; Me 60,5 лет,  $r_U = 0,4$ ) и структуре/частоте факторов риска (курение, артериальная гипертензия, ожирение).

#### Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде медианных (Me) значений и интерквартильного диапазона (IQR, 25–75% квантили). Для проверки нормальности распределения признаков использовали тест Колмогорова–Смирнова и W-критерий Шапиро–Уилка. Для оценки достоверности различий использовали точный критерий Фишера ( $r_{TMF}$  для дискретных переменных) и непараметрический критерий Манна–Уитни ( $r_U$  для непрерывных переменных). Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Корреляционный анализ проводили методом ранговой корреляции по Спирмену.

## Результаты

До начала ингаляционной иммунотерапии больные с ОПМ чаще всего отмечали наличие таких симптомов, как головная боль, головокружение, утомляемость/астения, нарушение походки, эмоциональная лабильность, когнитивные и речевые расстройства. Из данных таблицы 1 видно, что исходно по шкале СОКС медиана по группе составила 14,5 баллов (IQR 11–17). Из 30 опрошенных только у 4 пациентов отсутствовали симптомы тревоги/депрессии, тогда у 6 (20%) и 20 (67%) больных определялось наличие субклинически и клинически выраженной тревоги/депрессии соответственно (HADS Me = 14; IQR 9–21). Координационно-двигательные нарушения регистрировались практически в 100% случаев. По шкале двигательной активности медиана по группе составила 30 баллов (IQR 25–35).

Нарушения устойчивости и походки умеренной (на уровне 21-33 балла) или легкой (34-38 балла) степени выраженности обнаруживались у 20 (67%) и 9 (30%) больных соответственно. 53% больных (16/30) характеризовались наличием умеренных когнитивных расстройств (MoCa менее 25 баллов). Кроме того, 3 пациента вообще не могли выполнить MoCa тест из-за афазии (n = 1) или алексии (n = 2, нарушение способности к чтению).

Курсовое лечение с использованием интраназальных ингаляций кондиционных сред аутологичных M2-макрофагов было безопасным и хорошо переносимым. Ни у одного из 30 пролеченных больных не было отмечено тяжелых нежелательных явлений и выраженных побочных реакций. Только 1 больной отмечал заложенность носа в течение 1,5 ч после ингаляции, и еще в одном случае регистрировалось усиление отделяемого из носа. Эти реакции купировались самостоятельно и не требовали медикаментозного лечения.

Динамику изменений неврологического статуса больных оценивали через 1 и 6 мес. после начала ингаляционной иммунотерапии (табл. 1). Уже через 1-2 дня после завершения курса ингаляций (через 1 мес. после начала лечения) отме-

чалась статистически значимая коррекция баллов по всем используемым шкалам. Достигнутый клинический результат был стойким, поскольку сохранялся и через 6 мес. наблюдения. К этому сроку у пролеченных больных (n = 30) отмечалось: 1) достоверное снижение на 43% уровня тревоги и депрессии (с исходных 14 до 8 баллов,  $p_U = 0,0008$ ); 2) увеличение на 25% общей двигательной активности (с исходных 30 до 37,5 баллов,  $p_U = 0,0001$ ); а также коррекция когнитивных функций ( $p_U = 0,007$ ). При этом важно отметить, что один из трех пациентов с алексией/грубой афазией смог частично пройти MoCa-тест на 12 баллов.

Регистрировалось также двукратное снижение (на 52%,  $p_U = 0,0001$ ) балла по шкале СОКС в среднем с 14,5 до 7 баллов. При анкетировании и опросе больные отмечали не только сокращение количества, но и снижение выраженности отдельных симптомов болезни. Положительный клинический эффект проявлялся в виде уменьшения интенсивности головных болей, головокружения, шума в голове/ушах, координационных нарушений, астении, эмоциональной лабильности. Большинство (более 70%) пролеченных больных изъявили желание повторить

**ТАБЛИЦА 1. НЕВРОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ С ОПМ (n = 30) ДО И ЧЕРЕЗ 1 И 6 МЕС. ПОСЛЕ НАЧАЛА ИНГАЛЯЦИОННОЙ ИММУНОТЕРАПИИ**

TABLE 1. NEUROLOGICAL STATUS OF PATIENTS WITH OBS (n = 30) BEFORE AND 1 AND 6 MONTHS AFTER THE INHALATION IMMUNOTHERAPY STARTING

Шкалы Scales		До терапии Before therapy	Через 1 мес. After 1 month	Через 6 мес. After 6 months
СОКС SACS	M±SE	15,0±1,0	9,9±1,1***	8,4±1,2***
	Median	14,5	8,5	7
	IQR	1-17	5-14	4-12
HADS	M±SE	15,1±1,2	9,3±0,9***	8,8±1,1***
	Median	14	9	8
	IQR	9-21	6-11	5-13
ШДА MAS	M±SE	29,9±1,1	34,7±0,9**	35,9±0,9***
	Median	30	36	37,5
	IQR	25-35	26-29	34-39
MoCa	M±SE	24,7±0,6	27,1±0,6**	26,6±0,9**
	Median	25	28	28,5
	IQR	23-27	26-29	24-29

**Примечание.** Здесь и в таблице 2: шкала субъективной оценки клинических симптомов (СОКС); госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS); шкала двигательной активности (ШДА); Монреальская шкала оценки когнитивных функций (MoCa).

\*\*\* –  $p_U < 0,001$ ; \*\* –  $p_U < 0,01$  – достоверность различия по сравнению с показателями до начала терапии (U-критерий Манна-Уитни).

Note. Here and in Table 2: scale of subjective assessment of clinical symptoms (SACS); hospital anxiety and depression scale (HADS); mobility activity scale (MAS); Montreal cognitive assessment (MoCa).

\*\*\*,  $p_U < 0,001$ ; \*\*,  $p_U < 0,01$  – the significance of differences compared with data before therapy (Mann-Whitney U test).

курс ингаляционной иммунотерапии уже вне рамок проводимых клинических испытаний.

Анализ динамики изменений неврологического статуса на уровне индивидуальных значений позволил выделить две подгруппы больных, которые были сопоставимы по полу и возрасту, а также по выраженности неврологического дефицита (баллы по шкалам) и нозологической структуре ОПМ. В то же время больные в сформированных подгруппах различались по выраженности клинического ответа на проводимую ингаляционную иммунотерапию (табл. 2). Подгруппа 1 включала 20 пациентов (20/30, 67%) с выраженным клиническим ответом, который уже через 1 мес. после начала лечения проявлялся статистически значимой коррекцией показателей по всем используемым шкалам и сохранялся в течение 6 мес. наблюдения. Подгруппу 2 составили 10 больных с умеренным клиническим ответом. У этих больных также регистрировались положительные сдвиги, но только по отдельным шкалам, поэтому коррекция на уровне средних групповых значений не была достоверной.

Одной из задач исследования являлась оценка цитокинового статуса у больных с ОПМ в динамике проведения ингаляционной иммунотерапии. Из мультиплексной, диагностической панели уровень IL-1 $\alpha$ , TNF $\beta$ , IL-12p40, LIF, M-CSF и SCGF- $\beta$  в сыворотке крови больных и здоровых добровольцев выходил за нижнюю границу чувствительности используемых тест-систем. Поэтому они были исключены из дальнейшего

статистического анализа. Для удобства восприятия материала оставшиеся цитокины с учетом их функциональной активности были нами отнесены к нескольким подгруппам (табл. 3). Подгруппа провоспалительных и проапоптотических цитокинов включала IL-18, MIF, IFN $\alpha$ 2, TNF $\alpha$  и TRAIL; подгруппа Th1- и Th2-цитокинов – IL-2, IL-2R $\alpha$ , IFN $\gamma$  и IL-4, IL-6, IL-10 соответственно; подгруппа нейротрофических и ангиогенных факторов – BDNF,  $\beta$ -NGF, IGF-1 и HGF; подгруппа гемопоэтических факторов – SCF, IL-3 и GM-CSF; подгруппа хемокинов – IL-16, STACK, GRO- $\alpha$ , IL-8, MCP-3, MCP-1, MIG и SDF-1 $\alpha$ .

Из данных таблицы 3 видно, что в сыворотке крови больных ОПМ до начала лечения обнаруживается многокомпонентный дефицит цитокинов. По сравнению с контролем достоверно снижено содержание провоспалительных (MIF) и проапоптотических (TRAIL) цитокинов, растворимого рецептора IL-2 (IL-2R $\alpha$ ) и Th2-цитокинов (IL-6, IL-10), отдельных хемокинов (IL-16, STACK, GRO- $\alpha$ ), а также на уровне отчетливого тренда – IL-8, MCP-3 и MCP-1 и, что важно отметить, нейротрофических (BDNF) и ангиогенных (HGF) факторов ( $p_U < 0,01$ ).

Корреляционный анализ в общей выборке условно здоровых доноров ( $n = 10$ ) и больных ОПМ, обследованных до терапии ( $n = 15$ ), выявил наличие прямой взаимосвязи возраста обследованных с уровнем MIG ( $r_s = 0,47$ ;  $p = 0,017$ ;  $n = 25$ ) и об-

**ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ С ВЫРАЖЕННЫМ (ПОДГРУППА 1,  $n = 20$ ) И УМЕРЕННЫМ (ПОДГРУППА 2,  $n = 10$ ) КЛИНИЧЕСКИМ ОТВЕТОМ**

TABLE 2. DYNAMICS OF NEUROLOGICAL STATUS IN PATIENTS WITH MARKED (SUBGROUP 1,  $n = 20$ ) AND MODERATE (SUBGROUP 2,  $n = 10$ ) CLINICAL RESPONSE

Группы Groups	Обследование Testing	СОКС SACS	HADS	ШДА MAS	MoCa
Подгруппа 1 Subgroup 1	До терапии Before therapy	14 (10,5-16,5)	15,5 (9-21)	32 (27,5-35,5)	25 (23-27)
	Через 1 мес. After 1 month	8 (4-10)**	8 (5,5-10,5)**	37 (33-39)**	29 (27-30)**
	Через 6 мес. After 6 months	5 (3-7)**	5,5 (4-13)**	38,5 (36-40)**	29 (28-30)**
Подгруппа 2 Subgroup 2	До терапии Before therapy	17 (13-24)	13,5 (11-18)	26 (21-31)	24 (23-27,5)
	Через 1 мес. After 1 month	14 (7-22) $p_U = 0,17$	10 (8-15) $p_U = 0,18$	34 (26-37) $p_U = 0,11$	25 (24-27,5) $p_U = 0,52$
	Через 6 мес. After 6 months	13 (7,5-18) $p_U = 0,10$	11,5 (7,5-15) $p_U = 0,20$	34 (28,5-37) $p_U = 0,06$	24 (24-29) $p_U = 0,38$

**Примечание.** См. примечание к таблице 1. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (в скобках); \*\* –  $p_U < 0,01$  – достоверность различия по сравнению с показателями до начала терапии (U-критерий Манна–Уитни).

Note. As for Table 1. Data are presented as median and interquartile range (in brackets); \*\*,  $p_U < 0,01$  – the significance of differences compared with data before therapy (Mann–Whitney U test).

ратной зависимости с IGF-1 ( $r_s = -0,59$ ;  $p = 0,002$ ;  $n = 25$ ).

Исходно выявленный дефицит цитокинов сохранялся в целом у больных ОПМ и после окончания курса ингаляционной иммунотерапии (табл. 3). По сравнению с контролем концентрация TRAIL, IL-2R $\alpha$ , GRO- $\alpha$ , BDNF и HGF

оставалась на низком уровне ( $p_U < 0,05$ ). Содержание IL-6, IL-10 и ряда хемокинов (IL-16, IL-8, MCP-3 и MCP-1) также было снижено, хотя различия с донорами не были статистически значимы ( $p_U > 0,05$ ). После лечения отмечалась только нормализация уровня MIF (в среднем с 91 до 179 пг/мл vs 200 пг/мл у доноров) и СТАК

**ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ОПМ ДО И ЧЕРЕЗ 1 МЕС. ПОСЛЕ НАЧАЛА ИНГАЛЯЦИОННОЙ ИММУНОТЕРАПИИ**

TABLE 3. SERUM CYTOKINE LEVEL IN PATIENTS WITH OBS BEFORE AND 1 MONTH AFTER THE INHALATION IMMUNOTHERAPY STARTING

Группы цитокинов (пг/мл) Groups of cytokines (pg/mL)		Контроль Control (n = 10)	До терапии Before therapy (n = 15)	Через 1 мес. After 1 month (n = 15)	p	p
		1	2	3	2 vs 1	3 vs 1
Группа 1 Group 1	IL-18	4,5 (1,0-10,2)	1,9 (1,0-3,2)	3,2 (0,6-5,5)		
	MIF	200 (92-261)	91 (68-157)*	179 (120-371)	0,046	0,8
	IFN $\alpha$ 2	28 (20-57)	29 (9-37)	23 (6-34)		
	TNF $\alpha$	73 (68-134)	71 (6-111)	61 (7-241)		
	TRAIL	32 (26-47)	22 (9-31)*	15 (1,5-44)*	0,02	0,03
Группа 2 Group 2	IL-2	18 (16-25)	12 (1,5-21)	11 (1,5-52)		
	IL-2R $\alpha$	27 (23-57)	19 (6-28)*	18 (3-24)*	0,02	0,02
	IFN $\gamma$	464 (200-774)	340 (44-564)	260 (76-1280)		
	IL-4	18 (14-27)	17 (6-22)	17 (7-38)		
	IL-6	28 (24-61)	23 (4-26)*	12 (4-96)	0,049	0,37
	IL-10	15 (12-21)	7,0 (2-12)*	5,0 (2-41)	0,05	0,62
Группа 3 Group 3	HGF	60 (33-121)	14 (4-33)**	19 (5-71)*	0,0009	0,05
	BDNF	12570 (10610-14000)	6740 (3600-9410)**	8160 (2540-10390)*	0,01	0,02
	IGF-1 (нг/мл)	125 (112-140)	107 (97-131)	114 (89-196)		
	$\beta$ -NGF	36 (22-60)	36 (18-44)	27 (13-47)		
Группа 4 Group 4	SCF	43 (33-48)	29 (19-43)	32 (24-38)		
	IL-3	64 (59-92)	59 (13-89)	31 (13-86)		
	GM-CSF	63 (60-104)	37 (5-86)	35 (5-165)		
Группа 5 Group 5	IL-16	154 (150-240)	104 (10-147)**	87 (7-210)	0,007	0,12
	СТАК	232 (202-374)	128 (98-194)*	240 (94-294)	0,04	0,37
	GRO- $\alpha$	39 (34-69)	17 (4-34)**	4,0 (3-38)*	0,003	0,04
	IL-8	58 (54-72)	39 (6-72)	44 (15-127)		
	MCP-3	32 (29-69)	16 (2-39)	20 (2-45)		
	MCP-1	170 (140-200)	125 (79-214)	129 (84-191)		
	MIG	178 (113-390)	164 (5-414)	78 (5-363)		
	SDF-1 $\alpha$	265 (240-366)	200 (126-309)	168 (74-315)		

**Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (в скобках); p – U-критерий Манна–Уитни. Группа 1 – провоспалительные и проапоптотические цитокины; группа 2 – Th1- и Th2-цитокины; группа 3 – нейротрофические и ангиогенные факторы; группа 4 – гемопоэтические факторы; группа 5 – хемокины.**

Note. Data are presented as median and interquartile range (in brackets); p, Mann–Whitney U test. Group 1, pro-inflammatory and pro-apoptotic cytokines; group 2, Th1 and Th2 cytokines; group 3, neurotrophic and angiogenic factors; group 4, hematopoietic factors; group 5, chemokines.

(CCL27, в среднем с 128 до 240 пг/мл vs 232 пг/мл у доноров).

Интересным оказался тот факт, что больные с выраженным и умеренным клиническим ответом на ингаляционную иммунотерапию различались между собой по исходному (до начала лечения) содержанию цитокинов в сыворотке крови. При этом больные, которые хорошо ответили на терапию, характеризовались более выраженными нарушениями цитокинового профиля (табл. 4). Видно, что по сравнению с группой контроля у больных в подгруппе 1 была достоверно снижена концентрация 13 цитокинов (TRAIL, IL-2, IL-2R $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-6, IL-10, HGF, BDNF, GM-CSF, IL-16, STACK, GRO- $\alpha$ , IL-8), тогда как у больных с умеренным ответом – только 3 (HGF, IL-16, GRO- $\alpha$ ). При этом по уровню IL-2, IFN $\gamma$ , IL-6 и GM-CSF больные подгруппы 1 отличались также и от больных 2-ой подгруппы ( $p_U < 0,05$ ).

Оценка содержания цитокинов в сыворотке крови до и после окончания курса ингаляционной иммунотерапии не выявила каких-либо статистически значимых различий у больных с умеренным неврологическим улучшением. В то же время у больных с выраженным клиническим ответом концентрация MIF возрастала до уровня нормальных значений (в среднем с 90 до 180 пг/мл,  $p_U = 0,02$  vs 200 пг/мл у доноров). Кроме того, отмечалось восстановление уровня HGF (в среднем с 17 до 68 пг/мл,  $p_U = 0,05$  vs 62 пг/мл у доноров).

Из данных, представленных на рисунке 1, видно, что увеличение содержания HGF после окончания иммунотерапии отмечалось в 78% случаев (у 7/9 больных) в подгруппе 1 и только у одного из 6 пролеченных больных из оппозитной 2-ой подгруппы (16,5%,  $p_{ТМФ} = 0,04$ ).

Корреляционный анализ в общей выборке больных ОПМ, обследованных до и после терапии, выявил прямую корреляционную взаимо-

**ТАБЛИЦА 4. ИСХОДНЫЙ УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ВЫРАЖЕННЫМ (ПОДГРУППА 1) И УМЕРЕННЫМ (ПОДГРУППА 2) КЛИНИЧЕСКИМ ОТВЕТОМ**

TABLE 4. BASELINE SERUM CYTOKINE LEVEL IN PATIENTS WITH MARKED (SUBGROUP 1) AND MODERATE (SUBGROUP 2) CLINICAL RESPONSE

Цитокины (пг/мл) Cytokines (pg/mL)	Контроль Control (n = 10)	Больные с ОПМ Patients with OBS		p		
		Подгруппа 1 Subgroup 1 (n = 9)	Подгруппа 2 Subgroup 2 (n = 6)	*	#	*
	1	2	3	2 vs 1	2 vs 3	3 vs 1
MIF	200 (92-261)	90 (71-157)	86 (65-100)	0,07		0,12
TRAIL	32 (26-47)	22 (9-29)*	24 (14-31)	0,03		0,10
IL-2	18 (16-25)	6,5 (1,5-12)** #	19 (16-33)	0,009	0,05	0,66
IL-2R $\alpha$	27 (23-57)	18 (6-28)*	22 (8-24)	0,04		0,06
IFN $\gamma$	464 (200-774)	120 (38-340)* #	526 (360-930)	0,05	0,04	0,62
IL-6	28 (24-61)	4,0 (4-25)** #	29 (23-76)	0,004	0,04	0,99
IL-10	15 (12-21)	2,5 (2-10)*	12 (7-27)	0,01	0,12	0,66
HGF	60 (33-121)	17 (5-30)**	5,0 (4-33)**	0,004	0,34	0,006
BDNF	12570 (10610-14000)	7250 (2100-9410)*	6560 (5960-8120)	0,01		0,10
SCF	43 (33-48)	27 (20-43)	40 (13-42)	0,06		0,23
GM-CSF	63 (60-104)	17 (4,5-37)* #	72 (57-146)	0,02	0,05	0,91
IL-16	154 (150-240)	104 (10-125)*	138 (61-147)*	0,02		0,03
STACK	232 (202-374)	112 (5-182)*	157 (102-232)	0,03		0,28
GRO- $\alpha$	39 (34-69)	4,0 (4-30)**	20 (3-47)*	0,003	0,72	0,05
IL-8	58 (54-72)	25 (6-47)*	62 (39-120)	0,02	0,11	0,91
MCP-1	170 (140-200)	121 (68-162)	156 (122-214)	0,06		0,74

**Примечание.** Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (в скобках); p – U-критерий Манна–Уитни.

Note. Data are presented as median and interquartile range (in brackets); p, Mann–Whitney U test.

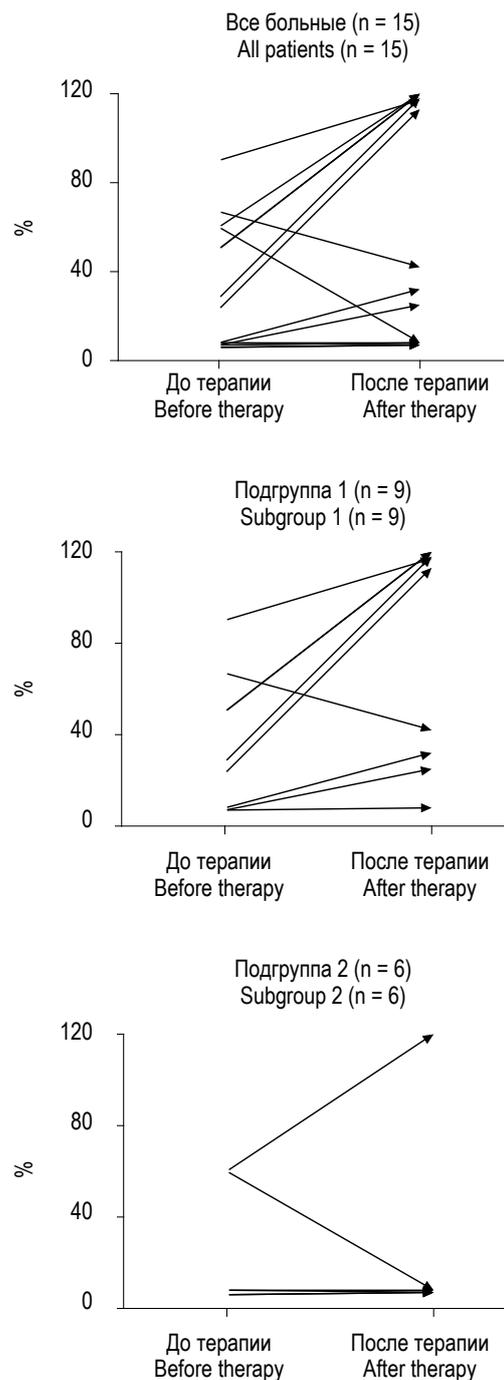
связь уровня HGF с BDNF ( $r_s = 0,46$ ;  $p = 0,01$ ;  $n = 30$ ). Наличие такой взаимосвязи свидетельствует, что клинически значимый ответ на проводимую иммунотерапию сопряжен не только с коррекцией уровня циркулирующего HGF, но и с увеличением концентрации BDNF – факторов, играющих ключевую роль в ангиогенезе и репаративных процессах (HGF) и обеспечивающих нейрогенез, синаптогенез и протекцию нейронов в ЦНС (BDNF).

## Обсуждение

Нервная и иммунная системы являются основными регуляторными гомеостатическими системами организма, функционирование которых тесно взаимосвязано. Установлено, что различные биоактивные факторы (цитокины, ростовые и трофические факторы, хемокины) играют определяющую роль в психонейроиммунных взаимоотношениях, поскольку как сами биоактивные факторы, так и рецепторы к ним продуцируются и экспрессируются иммунокомпетентными клетками (Т-лимфоцитами, макрофагами) и клетками нервной системы (микроглией, нейронами, олигодендроцитами). Таким образом, обеспечивается адекватная сопряженная работа иммунной и нервной систем [20].

Цитокины играют исключительно важную роль в регуляции нейрорепаративных процессов. Нейротрофические факторы (NGF, BDNF, GDNF, NT 4/5) и ряд ростовых факторов (IGF-1, bFGF, EGF, EPO, VEGF) стимулируют миграцию, пролиферацию и дифференцировку нейральных стволовых клеток, рост аксонов, синаптогенез и образование новых сосудов [10, 21, 30]. Указанные факторы в наибольших количествах продуцируются мезенхимальными стромальными клетками, а также макрофагами 2-го типа [5, 13].

Проведенные нами клинические исследования показали, что использование 1) кондиционной среды M2-макрофагов в качестве терапевтического средства и 2) интраназальных ингаляций в качестве способа доставки биоактивных факторов через слизистую обонятельных зон является безопасным, хорошо переносимым и, по предварительным данным, клинически эффективным в лечении пациентов с ОПМ различного генеза. Проведение ингаляционной иммунотерапии не сопровождалось развитием серьезных нежелательных явлений и побочных реакций. Через 2-3 дня после завершения курса ингаляций в целом по группе регистрировалось статистически достоверное снижение уровня тревоги и депрессии; увеличение общей двигательной активности (устойчивости и походки); коррекция когнитивных функций; сокращение количества и уменьшение интенсивности симптомов болезни.



**Рисунок 1. Изменение сывороточного уровня HGF у больных с ОПМ в динамике ингаляционной иммунотерапии**

**Примечание.** Данные представлены в виде относительной величины от медианного значения контрольной группы (62 пг/мл;  $n = 10$ ), принятого за 100%. Подгруппа 1 – больные с выраженным и подгруппа 2 – с умеренным клиническим ответом на терапию.

Figure 1. Change in serum HGF level in patients with OBS in the dynamics of inhalation immunotherapy

Note. The data are presented as a relative value of the median of the control group (62 pg/mL,  $n = 10$ ) taken as 100%. Subgroup 1, patients with marked; subgroup 2, with moderate clinical response to therapy.

Больные отмечали уменьшение головных болей, головокружения, шума в голове/ушах, координационных нарушений, астении, эмоциональной лабильности, что в конечном итоге приводило к улучшению активности, коммуникационных возможностей и нормализации эмоционального фона. Клинический эффект проявлялся достаточно быстро — уже через месяц после первой ингаляции, и сохранялся в течение 6-месячного срока последующего наблюдения.

Несмотря на общую положительную динамику, индивидуальный анализ изменений неврологического статуса позволил выделить больных с выраженным ( $n = 20,67\%$ ) и умеренным ( $n = 10,33\%$ ) клиническим ответом на проводимую терапию.

При оценке уровня цитокинов в сыворотке крови у этих больных неожиданным для нас оказалось два наблюдения. Во-первых, больные, которые хорошо ответили на ингаляционную иммунотерапию, отличались более выраженными нарушениями цитокинового профиля. По сравнению с донорами у больных с умеренным клиническим ответом был достоверно снижен уровень HGF, IL-16 и GRO- $\alpha$ , тогда как у больных с выраженным клиническим ответом в дополнение к ним — TRAIL, IL-2, IL-2R $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-6, IL-10, BDNF, GM-CSF, CTACK и IL-8.

Во-вторых, несмотря на то, что у больных в целом, и особенно у пациентов с умеренным клиническим ответом, проведение курса ингаляционной иммунотерапии не сопровождалось статистически значимой коррекцией цитокинового статуса на системном уровне, в подгруппе больных с выраженным клиническим ответом отмечалась нормализация концентрации MIF и HGF в крови. В частности, в этой группе прирост в уровне HGF регистрировался в 78%, тогда как в оппозитной 2-ой подгруппе — только в 16,5% случаев ( $p_{\text{ТМФ}} = 0,04$ ). Характерно при этом, что уровень HGF прямо коррелировал с концентрацией BDNF ( $r_s = 0,46$ ;  $p = 0,01$ ). Схожие данные были получены Baum E. и соавт., которые у больных с тяжелой почечной недостаточностью показали, что повышение уровня HGF в сыворотке крови после проведения процедуры гемодиализа прямо коррелирует ( $R = 0,469$ ,  $P < 0,001$ ) с показателями качества жизни по анкете KDQoL-SF (Kidney Disease Quality of Life Short Form) [2].

HGF — это полифункциональный цитокин, который обладает ангиогенной, противовоспалительной, антиапоптотической и антифибротической активностями [23]. Благодаря такому широкому спектру биологических эффектов, HGF активно участвует в репаративных процессах в различных органах и тканях (печень, почки, легкие, сердце, мозг). В частности, еще в 90-х годах было установлено, что HGF обладает нейро-

трофическими свойствами и обеспечивает выживаемость нейронов гиппокампа и коры головного мозга, а также спинного мозга [17, 22]. В модели окклюзии мозговой артерии было показано, что HGF стимулирует функциональное восстановление у крыс через механизмы усиления роста нейритов, стабилизации синаптических контактов и образования новых сосудов и коллатералей в зоне ишемии [25].

Эффекты HGF реализуются через его связывание с рецептором с-Met, что приводит к фосфорилированию тирозина и активации тирозинкиназного сигнального каскада [4]. В результате, стимулируются процессы нейрогенеза (т.е. образования из нейральных стволовых клеток новых нейронов), синаптогенеза (т.е. формирования новых синаптических связей) и ангиогенеза. Недавно было показано, что с помощью синтетического аналога ангиотензина (Dihexa) можно значительно усилить способность HGF активировать с-Met-опосредованные сигнальные каскады и, как следствие, интенсифицировать процессы нейрорегенерации. Поскольку Dihexa, являясь низкомолекулярной субстанцией, может проникать через ГЭБ при пероральном приеме, ее использование рассматривается в качестве нового перспективного подхода в лечении болезни Альцгеймера [28] и болезни Паркинсона [29].

Концентрация HGF в сыворотке крови может существенно снижаться, особенно при длительно текущих, хронических заболеваниях вследствие сохраняющейся ишемии, высокого уровня гликемии или циркулирующего TGF- $\beta$ . 83% больных, включенных нами в исследование, были либо с последствиями ишемического инсульта (10 пациентов), либо с хронической ишемией головного мозга II степени (15 пациентов). Не удивительно, что в сыворотке крови больных ОПМ до начала курса ингаляционной иммунотерапии нами был выявлен многокомпонентный дефицит цитокинов, в том числе HGF и BDNF.

Ранее нами было показано, что M2-макрофаги активно секретируют целый комплекс различных нейротрофических, нейропротективных и ангиогенных факторов (EPO, VEGF, IGF-1, BDNF, EGF, FGF-basic и др.) [5, 24]. Следует отметить, что по спектру продуцируемых трофических факторов M2-макрофаги во многом схожи с мезенхимальными стромальными клетками (МСК), а также нейральными стволовыми клетками [13]. Различные типы этих клеток (МСК, выделенные из костного мозга, пуповинной крови, жировой ткани; стволовые клетки: клетки-предшественники: эмбриональные стволовые клетки и т.д.), а также отдельные трофические факторы (EPO, BDNF, HGF, GM-CSF и др.) активно используются в доклинических и клинических трайлах с целью усиления восстановительных процессов

и улучшения неврологических функций после инсульта [9, 15, 32].

## Заключение

Показана возможность клинического применения растворимых продуктов M2-макрофагов в виде курса интраназальных ингаляций для ле-

чения больных с ОПМ различного генеза. Установлено, что выраженный позитивный ответ на ингаляционную иммунотерапию сопряжен с увеличением концентрации HGF в сыворотке. Ингаляционная иммунотерапия позволяет повысить эффективность неврологического и функционального восстановления больных с ОПМ.

## Список литературы / References

1. Alcalá-Barraza S.R., Lee M.S., Hanson L.R., McDonald A.A., Frey W.H., McLoon L.K. Intranasal delivery of neurotrophic factors BDNF, CNTF, EPO and NT-4 to the CNS. *J. Drug Target.*, 2010, Vol. 18, no. 3, pp. 179-190.
2. Baum E., Pawlaczyk K., Mackowiak B., Sosinska P., Matecka M., Kolodziejczak B., Musielak M., Breborowicz A. Levels of hepatocyte growth factor in serum correlate with quality of life in hemodialysis patients. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 2015, Vol. 8, no. 10, pp. 13477-13482.
3. Benedict C., Kern W., Schultes B., Born J., Hallschmid M. Differential sensitivity of men and women to anorexigenic and memory-improving effects of intranasal insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008, Vol. 93, no. 4, pp. 1339-1344.
4. Bottaro D.P., Rubin J.S., Faletto D.L., Chan A.M., Kmiecik T.E., Vande Woude G.F., Aaronson S.A. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. *Science*, 1991, Vol. 251, no. 4995, pp. 802-804.
5. Chernykh E.R., Shevela E.Ya., Sakhno L.V., Tikhonova M.A., Petrovsky Ya.L., Ostanin A.A. The generation and properties of human M2-like macrophages: potential candidates for CNS repair? *Cell Ther. Transplant.*, 2010, Vol. 2, no. 6, e.000080.01. doi: 10.3205/ctt-2010-en-000080.01.
6. Chernykh E.R., Kafanova M.Yu., Shevela E.Y., Adonina E.I., Sakhno L.V., Tikhonova M.A., Ostanin A.A. Autologous M2-like macrophage applications in children with cerebral palsy. *Cell Ther Transplant.*, 2011, Vol. 3, no. 11, e.000092.01. doi: 10.3205/ctt-2011-en-000092.01.
7. Chernykh E.R., Kafanova M.Y., Shevela E.Y., Sirota S.I., Adonina E.A., Ostanin A.A., Kozlov V.A. Clinical experience with autologous M2-macrophages in children with severe cerebral palsy. *Cell Transplant.*, 2014, Vol. 23, Suppl. 1, S97-104.
8. Chernykh E.R., Shevela E.Y., Starostina N.M., Morozov S.A., Davydova M.N., Menyaeva E.V., Ostanin A.A. Safety and therapeutic potential of M2-macrophages in stroke treatment. *Cell Transplant.*, 2016, Vol. 25, no. 8, pp. 1461-1471.
9. Chopp M., Li Y. Stimulation of plasticity and functional recovery after stroke – cell-based and pharmacological therapy. *European Neurological Review*, 2011, Vol. 6, no. 2, pp. 97-100.
10. Crigler L., Robey R.C., Asawachaicharn A., Gaupp D., Phinney D.G. Human mesenchymal stem cell subpopulations express a variety of neuro-regulatory molecules and promote neuronal cell survival and neuritogenesis. *Exp. Neurol.*, 2006, Vol. 198, no. 1, pp. 54-64.
11. Dhuria S.V., Hanson L.R., Frey W.H. Intranasal delivery to the central nervous system: mechanisms and experimental considerations. *J. Pharm. Sci.*, 2010, Vol. 99, no. 4, pp. 1654-1673.
12. Donnelly D.J., Popovich P.G. Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury. *Exp. Neurol.*, 2008, Vol. 209, no. 2, pp. 378-388.
13. Drago D., Cossetti C., Iraci N., Gaude E., Musco G., Bachi A., Pluchino S. The stem cell secretome and its role in brain repair. *Biochimie*, 2013, Vol. 95, no. 12, pp. 2271-2285.
14. Gordon S., Taylor P.R. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2005, Vol. 5, no. 12, pp. 953-964.
15. Gutierrez-Fernandez M., Fuentes B., Rodriguez-Frutos B., Ramos-Cejudo J., Vallejo-Cremades M.T., Diez-Tejedor E. Trophic factors and cell therapy to stimulate brain repair after ischaemic stroke. *J. Cell Mol. Med.*, 2012, Vol. 16, no. 10, pp. 2280-2290.
16. Hallschmid M., Benedict C., Schultes B., Born J., Kern W. Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signaling. *Int. J. Obes. (Lond.)*, 2008, Vol. 32, no. 2, pp. 275-282.
17. Hamaoui M., Takemoto N., Matsumoto K., Nakamura T., Nakajima K., Kohsaka S. Neurotrophic effect of hepatocyte growth factor on central nervous system neurons *in vitro*. *J. Neurosci. Res.*, 1996, Vol. 43, no. 5, pp. 554-564.
18. Hohlfeld R., Kerschensteiner M., Meinl E. Dual role of inflammation in CNS disease. *Neurology*, 2007, Vol. 68, no. 22, Suppl. 3, S58-S63.
19. Kerschensteiner M., Gallmeier E., Behrens L., Leal V.V., Misgeld T., Klinkert W.E., Kolbeck R., Hoppe E., Oropeza-Wekerle R.L., Bartke I., Stadelmann C., Lassmann H., Wekerle H., Hohlfeld R. Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor *in vitro* and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation. *J. Exp. Med.*, 1999, Vol. 189, no. 5, pp. 865-870.
20. Kronfol Z., Remick D.G. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am. J. Psychiatry*, 2000, Vol. 157, no. 5, pp. 683-694.

21. Lu D., Mahmood A., Qu C. Goussev A., Schallert T., Chopp M. Erythropoietin enhances neurogenesis and restores spatial memory in rats after traumatic brain injury. *J. Neurotrauma*, 2005, Vol. 22, no. 9, pp. 1011-1017.
22. Miyazawa T., Matsumoto K., Ohmichi H., Katoh H., Yamashima T., Nakamura T. Protection of hippocampal neurons from ischemia-induced delayed neuronal death by hepatocyte growth factor: a novel neurotrophic factor. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1998, Vol. 18, no. 4, pp. 345-348.
23. Nakamura T., Mizuno S. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proc. Jpn Acad., Ser. B Phys. Biol. Sci.*, 2010, Vol. 86, no. 6, pp. 588-610.
24. Sakhno L.V., Shevela E.Ya., Tikhonova M.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R. The phenotypic and functional features of human M2 macrophages generated under low serum conditions. *Scand. J. Immunol.*, 2016, Vol. 83, no. 2, pp. 151-159.
25. Shimamura M., Sato N., Waguri S., Uchiyama Y., Hayashi T., Iida H., Nakamura T., Ogihara T., Kaneda Y., Morishita R. Gene transfer of hepatocyte growth factor gene improves learning and memory in the chronic stage of cerebral infarction. *Hypertension*, 2006, Vol. 47, pp. 742-751.
26. Thorne R.G., Pronk G.J., Padmanabhan V., Frey W.H. Delivery of IGF-I to the rat brain and spinal cord along olfactory and trigeminal pathways following intranasal administration. *Neuroscience*, 2004, Vol. 127, no. 2, pp. 481-496.
27. Thorne R.G., Hanson L.R., Ross T.M., Tung D., Frey W.H. Delivery of interferon- $\beta$  to the monkey nervous system following intranasal administration. *Neuroscience*, 2008, Vol. 152, no. 3, pp. 785-797.
28. Wright J.W., Harding J.W. The brain hepatocyte growth factor/c-Met receptor system: a new target for the treatment of Alzheimer's disease. *J. Alzheimer's Dis.*, 2015, Vol. 45, no. 4, pp. 985-1000.
29. Wright J.W., Kawas L.H., Harding J.W. The development of small molecule angiotensin IV analogs to treat Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Prog. Neurobiol.*, 2015, Vol. 125, pp. 26-46.
30. Yang X.T., Bi Y.Y., Feng D.F. From the vascular microenvironment to neurogenesis. *Brain Res. Bull.*, 2011, Vol. 84, no. 1, pp. 1-7.
31. Yin Y., Cui Q., Li Y., Irwin N., Fischer D., Harvey A.R., Benowitz L.I. Macrophage-derived factors stimulate optic nerve regeneration. *J. Neurosci.*, 2003, Vol. 23, no. 6, pp. 2284-2293.
32. Zhang Z.G., Chopp M. Neurorestorative therapies for stroke: underlying mechanisms and translation to the clinic. *Lancet Neurol.*, 2009, Vol. 8, no. 5, pp. 491-500.
33. Zhu J., Jiang Y., Xu G., Liu X. Intranasal administration: a potential solution for cross-BBB delivering neurotrophic factors. *Histol. Histopathol.*, 2012, Vol. 27, no. 5, pp. 537-548.

**Авторы:**

**Останин А.А.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Давыдова М.Н.** — врач-невролог клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Старостина Н.М.** — к.м.н., заслуженный врач РФ, заведующая отделением иммунологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Сахно Л.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Шевела Е.Я.** — д.м.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Черных Е.Р.** — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Authors:**

**Ostanin A.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Davydova M.N.**, Neurologist, Clinic of Immunopathology, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Starostina N.M.**, PhD (Medicine), Honored Doctor of Russian Federation, Head, Immunology Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Sakhno L.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Shevela E.Ya.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Chernykh E.R.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 12.09.2017  
Принята к печати 15.02.2018

Received 12.09.2017  
Accepted 15.02.2018