

ОБЗОР

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ТЕРАПИИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Наместникова Д.Д.^{1,2}, Коваленко Д.Б.², Покусаева И.А.², Чудакова Д.А.¹, Губский И.Л.^{1,2}, Ярыгин К.Н.³, Баклаушев В.П.^{1,2}

¹ ФГБУ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва, Россия;

² ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

³ ФГБУН НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия;

Аннотация

В последние три десятилетия были получены важные данные о том, что трансплантация мезенхимальных стволовых клеток оказывает выраженное положительное действие при экспериментальном инфаркте головного мозга у животных. Обнадеживающие результаты доклинических исследований сделали возможным проведение клинических испытаний по трансплантации мезенхимальных стволовых клеток пациентам с ишемическим инсультом. В настоящем обзоре приведены и проанализированы результаты завершенных клинических исследований, посвященных клеточной терапии ишемического инсульта с использованием мезенхимальных стволовых клеток. На основании проведенного анализа можно заключить, что трансплантация мезенхимальных стволовых клеток является безопасной и целесообразной с экономической и медико-биологической точек зрения. Для дальнейшего внедрения данной перспективной технологии терапии в клиническую практику необходимо продолжение рандомизированных плацебо-контролируемых многоцентровых клинических испытаний на большой выборке пациентов и оптимизация протоколов клеточной трансплантации и критериев включения пациентов в исследование. В настоящей работе обсуждаются также возможные стратегии для усиления клеточной терапии с использованием мезенхимальных стволовых клеток.

Ключевые слова: клеточная терапия; мезенхимные стволовые клетки; ишемический инсульт; клинические исследования.

Для цитирования: Наместникова Д.Д., Коваленко Д.Б., Покусаева И.А., Чудакова Д.А., Губский И.Л., Ярыгин К.Н., Баклаушев В.П. Мезенхимальные стволовые клетки при терапии ишемического инсульта. *Клиническая практика*. 2023;14(4):In Press.
doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract624157>

Поступила 01.12.2023

Принята 10.12.2023

Опубликована online 14.12.2023

MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE TREATMENT OF ISCHEMIC STROKE

Namestnikova D.D.^{1,2}, Kovalenko D.B.^{1,2}, Pokusaeva I.A.², Chudakova D.A.¹, Gubskiy I.L.^{1,2}, Yarygin K.N.³, Baklaushev V.P.^{1,2}

¹ Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia;

² Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia;

³ Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract

Over the past three decades, multiple preclinical studies have been conducted and have shown that transplantation of the mesenchymal stem has a pronounced positive effect in animals with experimental stroke. On the base of the promising results of the preclinical studies several clinical trials with the mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients have also been conducted. In this review we presented and analyzed the results of completed clinical trials dedicated to the mesenchymal stem cells transplantation in patients with ischemic stroke. According to obtained results it can be concluded that transplantation of the mesenchymal stem cells is safe and feasible from an economic and medical-biological point of view. For further implementation of this promising approach into the clinical practice randomized, placebo-controlled, multicenter clinical trials on a large sample of patients and with the optimize cell transplantation protocols and patients' inclusion criteria are needed. In this review we also discuss possible strategies to enhance the effectiveness of cell therapy with the use of the mesenchymal stem cells.

Keywords: cell therapy; mesenchymal stem cells; ischemic stroke; clinical trials.

For citation: Namestnikova DD, Kovalenko DB, Pokusaeva IA, Chudakova DA, Gubskiy IL, Yarygin KN, Baklaushev VP. Mesenchymal stem cells in the treatment of ischemic stroke. *Journal of Clinical Practice*. 2023;14(4): In Press. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract567849>

Submitted 30.07.2023

Revised 13.11.2023

Published online 14.12.2023

IN PRESS

Введение

Ишемический инсульт (ИИ) продолжает оставаться одной из самых актуальных проблем современной медико-биологической науки в связи с высокими показателями заболеваемости, летальности и инвалидизации пациентов [1–3]. По данным Всемирной организации здравоохранения, ИИ и другие виды острых нарушений кровообращения на текущий момент занимают второе место -11% в структуре общемировой смертности [4–6]. На территории Российской Федерации за последние 5 лет было зарегистрировано порядка 430–470 тыс. случаев ИИ в год, при этом госпитальная летальность пациентов отмечалась на очень высоком уровне и составляла 17–21% [7]. На сегодняшний день единственное эффективное лечение ИИ возможно только в остром периоде путем проведения внутривенного тромболитика и/или внутрисосудистой тромбэкстракции для восстановления кровотока в церебральных артериях [8,9]. Эти методы имеют ряд ограничений и противопоказаний, среди которых ведущим является короткий временной интервал (“терапевтическое окно”) их применения, составляющее по данным последних исследований 4,5 часа для внутривенного тромболитика, до 24 часов для тромбэкстракции [10–12]. У многих пациентов после перенесенного ИИ, даже после успешной проведенной реперфузионной терапии, сохраняется пожизненный неврологический дефицит в связи с гибелью нейронов и глиальных клеток в очаге инфаркта головного мозга [13]. По данным последних аналитических исследований было показано, что в Российской Федерации высокий процент инвалидизации пациентов после ИИ приводит не только к формированию постоянной утраты их трудоспособности, но также к сокращению вклада в экономику их родственников, осуществляющих уход [4]. Годовые затраты в среднем на 1 случай инсульта для государства составляют 0,9—1,2 млн руб., а возникающий в течение первого года после инсульта экономический ущерб составляет 0,3% годового ВВП страны. Все вышеописанное приводит к формированию значительного социально-экономического бремени для государства и подтверждает необходимости поиска и разработки инновационных методов и подходов для терапии ИИ.

В последние два десятилетия было получено множество доказательств о том, что трансплантация мезенхимальных стволовых клеток может стать перспективным методом терапии ИИ. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) — это удовлетворяющие критериям стволовости клетки из популяций мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (согласно терминологии, разработанной по рекомендациям Международного общества клеточной терапии (International Society for Cellular Therapy — ISCT)) [14]. Под критериями стволовости подразумевается клеточная мультипотентность - способность дифференцироваться в мезодермальные, эктодермальные и энтодермальные клетки, наряду со способностью к делению и пролиферации. МСК широко применяются в клеточной терапии и регенеративной медицине, в связи с их иммуномодулирующим, противовоспалительным, стимулирующим ангиогенез и снижающим клеточную гибель действием как самих МСК, так и биоактивных молекул, которые они секретируют [15,16]. Наряду с непосредственной секрецией регуляторных молекул во внеклеточное пространство, МСК секретируют внеклеточные везикулы (ВВ), нагруженные молекулами, облегчающими их одновременную доставку к клеткам-мишеням в достаточном количестве. Из ВВ наиболее хорошо изучены экзосомы (ВВ размером примерно 50–150 нм), которые могут транспортировать широкий спектр регуляторных микроРНК и факторов роста.

Фенотипически МСК характеризуются экспрессией ряда клеточных маркеров. Согласно минимальным критериям, предложенным Комитетом по Мезенхимальным и Тканевым стволовым клеткам Международного общества клеточной терапии, к МСК относятся клетки экспрессирующие CD105, CD73 и CD90, и не экспрессирующие CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79 α или CD19 и HLA-DR. Они должны обладать способностью не только к адгезии к пластику при культивировании при стандартных условиях, но и способностью дифференцироваться в остеобласты, адипоциты и хондробласты *in vitro* [17]. Помимо этого МСК способны дифференцироваться в гепатоциты [18], кардиомиоциты [19] и

другие клетки. Способность МСК к нейрональной дифференцировке *in vivo* без дополнительной индукции в настоящее время вызывает сомнения в научном сообществе [20]. МСК можно выделить из множества разных органов и тканей: костного мозга, плаценты, пуповины, амниотической жидкости, жировой ткани, кожи, пульпы зуба, кожи, стромальной ткани паренхиматозных органов и других источников [21–26]. Стоит также отметить, что МСК, полученные из разных источников или даже от различных доноров, могут иметь небольшие различия в экспрессии генов и, как следствие, разные свойства [27].

МСК обладают иммуномодулирующим эффектом, они считаются относительно иммунологически инертными (иммунопредвигированными), то есть риск отторжения трансплантированных МСК клеток при аллогенной трансплантации невелик, хотя и не исключен полностью [28]. Помимо высокой доступности, среди прочих преимуществ МСК важно отметить сравнительную низкую стоимость получения первичной культуры без биоэтических проблем, легкость и скорость культивирования *in vitro*. В экспериментальных и клинических исследованиях не было выявлено формирования опухолей или онкогенной трансформации трансплантированных клеток [29,30].

По данным многочисленных доклинических исследований трансплантация МСК животным с моделями экспериментального инфаркта мозга может оказывать выраженное положительное терапевтическое действие [31–33]. Показано, что после как системной (внутриартериальной и внутривенной) трансплантации МСК, так и после внутримозгового введения, улучшается выживаемость лабораторных животных, в той или иной степени уменьшается степень выраженности неврологического дефицита, а в ряде исследований было также отмечено уменьшение размеров зоны инфаркта мозга [34–40]. Оптимальный способ трансплантации МСК в доклинических исследованиях не был до конца определен, однако наиболее перспективным для использования при ИИ, особенно в острейшем и остром периодах, является системное (внутриартериальное или внутривенное) введение. При таком типе введения МСК потенциально могут оказывать системное действие как на периферии, так и в пределах центральной нервной системы [41]. Внутривенное введение является наименее инвазивным, однако, следует отметить, большая часть клеток задерживается в паренхиматозных органах (легкие, печень, селезенка и даже почки), что уменьшает доставку трансплантата в мозг и функциональное восстановление по сравнению с внутриартериальным введением [42]. Внутриартериальная трансплантация продемонстрировала наилучшую терапевтическую эффективность, обеспечивая адресную доставку МСК в церебральные артерии, минуя периферические органы [43]. При выполнении внутриартериального введения есть потенциальный риск церебральной эмболии, однако эмболических осложнений можно избежать при подборе дозы и скорости введения МСК [44]. Кроме того, в последние десятилетия благодаря активному развитию методов эндоваскулярной хирургии внутриартериальный доступ стал более доступными для применения в рутинной клинической практике.

Оптимальное время трансплантации МСК, так и других типов СК, до сих пор не определено, однако в отличие от реперфузионной терапии предполагаемое терапевтическое «окно» клеточной терапии при ишемическом инсульте составляет более длительный промежуток времени: сообщается о положительном терапевтическом эффекте клеточной трансплантации от нескольких часов до нескольких месяцев после развития острого нарушения мозгового кровообращения [40]. При сравнении выраженности терапевтического действия наилучшее функциональное восстановление и более быстрое уменьшение объема очага инфаркта мозга у экспериментальных животных отмечались в период 24–48 часов с момент появления неврологической симптоматики [45,46]. Ряд исследователей связывает такой феномен со способностью МСК оказывать выраженное противовоспалительное и нейропротективное действие при ишемии мозга, нейровоспалении и повреждении гематоэнцефалического барьера [47].

Важно отметить, что МСК имеют ряд важных преимуществ своего в острейшем и остром периодах ИИ, помимо высокой безопасности их трансплантации, относительно

низкую стоимость и возможность быстрого получения из многих тканей пациента, донора или плаценты/пуповинной крови без биоэтических проблем, низкую иммуногенность и иммуномодулирующие свойства [48]. Уникальные иммунологические свойства МСК делают потенциально возможным как аутологичную, так и аллогенную трансплантацию стволовых клеток, что особенно при выборе терапии ИИ в остром периоде [46,49].

Вышеописанные свойства мезенхимальных стволовых клеток и обнадеживающие результаты доклинических исследований сделали возможным проведение в зарубежных странах первых клинических испытаний по изучению влияния трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на течение и исходы ИИ у человека.

Цель настоящего обзора: обобщить накопленный опыт по клиническим исследованиям трансплантации МСК при ИИ, представить современную концепцию механизма действия МСК на основе доказательной медицины и наметить наиболее интересные с нашей точки зрения пути развития клеточной терапии ИИ.

Результаты клинических исследований

На текущий момент в научной литературе представлены результаты 14 клинических испытаний на пациентах с ИИ, которые были проведены в зарубежных странах и в которых оценивалась безопасность и эффективность трансплантации МСК, полученных из разных источников. Пациентам трансплантировали как аутологичные, так и аллогенные и даже генетически модифицированные МСК. Во всех исследованиях, помимо, клеточной терапии, пациентам с ИИ проводили «стандартную» терапию, согласно принятым в стране клиническим рекомендациям. Обобщенные результаты проведенных исследований представлены в таблице 1.

Трансплантация аутологичных МСК

Одним из первых клинических исследований по клеточной терапии ИИ с помощью трансплантации МСК было проведено в 2005 году Bang и соавторами [50]. Это было исследование I/II фазы, целью которого была проверка безопасности, целесообразности и первичной эффективности клеточной терапии при ИИ у пациентов. В исследование было включено 5 человек, которым осуществляли внутривенную трансплантацию аутологичных костномозговых МСК в дозе 100 миллионов клеток (для культивирования клеточной культуры использовали среды, содержащие fetalную бычью сыворотку) через 5–7 недель от момента начала заболевания. В исследовании не было зафиксировано серьезных побочных эффектов, и трансплантация была признана безопасной. Кроме того, по сравнению с контрольной группой, состоявшей из 25 человек, у пациентов, получавших клеточную терапию, было отмечено стойкое клиническое улучшение и уменьшение степени выраженности неврологического дефицита через 3, 6 и 12 месяцев после трансплантации.

Основываясь на успехе этого первого исследования, та же группа впоследствии провела более крупное слепое исследование с участием уже большего числа пациентов (52 человека) [51]. В данном исследовании внутривенную трансплантацию МСК выполняли в два этапа – начальную дозу 50 миллионов (млн), через 2 недели еще дополнительные 50 млн клеток. В исследовании была также признана безопасность внутривенной трансплантации МСК. Авторы сообщили, что использование бычьей сыворотки для культивирования МСК не приводило к зоонозам или другим неблагоприятным эффектам. В группе с клеточной терапией наблюдался более высокий уровень функционального восстановления и более низкая смертность по сравнению с контрольной группой.

В виду того, что научное сообщество выражало обеспокоенность использования для культивирования МСК сред и сывороток, полученных от животных, особенно ввиду риска передачи прионных заболеваний, было инициировано еще одно клиническое исследование, в котором МСК культивировались с использованием аутологичной человеческой сыворотки [52]. В данном исследовании Nonou и соавторы производили внутривенную

трансплантацию костномозговых МСК пациентам спустя 36–133 дня от момента ИИ. Результаты подтвердили безопасность и осуществимость культивирования аутологичных костномозговых МСК с использованием аутологичной сыворотки человека. У пациентов не выявлено выраженных побочных эффектов. В группе пациентов с клеточной терапией была отмечена тенденция к уменьшению неврологического дефицита, а также значимое уменьшение размеров очага инфаркта мозга спустя 1 неделю после внутривенной трансплантации.

Bhasin и соавторами в 2011 году [53] впервые пациентам с ИИ трансплантировали аутологичные костномозговые МСК, которые культивировали на бессывороточной среде. В данном исследовании I/II фазы, МСК вводились внутривенно 12 пациентам с ИИ в раннем и позднем восстановительных периода (от 3 месяцев до 1 года после начала заболевания). Данные сравнивались с группой контроля (6 человек). В группе с клеточной терапией МСК не было выявлено серьезных побочных эффектов и отмечалась тенденция к уменьшению степени выраженности неврологического дефицита, однако при сравнении с группой контроля эти изменения были статистически не значимыми. В 2013 году той же научной группой [54] было проведено еще одно клиническое испытание, в котором эффективность МСК сравнивали с гемопозитическими/моноклеарными клетками. Результаты также подтвердили безопасность и осуществимость клеточной терапии с использованием МСК. У пациентов вновь при тенденции к улучшению неврологического дефицита, статистически значимых различий с группой контроля выявлено не было.

В 2019 году Fang и соавторы [55] опубликовали результаты клинического рандомизированного плацебо-контролируемого исследования I/IIa фазы в котором аутологичные костномозговые МСК трансплантировали пациентам с ИИ внутривенно. Для культивирования МСК использовалась фетальная бычья сыворотка. Оценку эффективности проводили спустя 1 неделю от момента начала заболевания. Сначала производили забор костного мозга для выделения и культивирования аутологичных МСК, затем вводили их внутривенно в два этапа – первую дозу 2,5 млн клеток на кг массы тела через 4 недели и повторно аналогичную дозировку спустя неделю. Терапевтическую эффективность и безопасность сравнивали между групп - с трансплантацией МСК (6 чел.), группой плацебо (6 чел.), которым внутривенно вводили аутологичные эндотелиальные прогениторные клетки (6 чел.). Период наблюдения составил 4 года. Исследование было признано безопасным, между группами с клеточной терапией и группой плацебо не было выявлено статистически значимых различий по показателям выживаемости и степени функционального восстановления. Возможная причина недостаточно выраженного терапевтического действия - введение МСК в подостром периоде ишемического инсульта. Данная проблема может быть решена путем трансплантации больным в острую фазу ИИ аллогенных стволовых клеток.

Трансплантация аллогенных нативных МСК

МСК легко размножаются в культуре и экспрессируют HLA-ABC на низком уровне, а HLA-DR практически не экспрессируют [56,57], что делает возможным их не только аутологичную, но и аллогенную трансплантацию [58]. Аллогенная трансплантация имеет важные преимущества для терапии неврологических заболеваний. Стоит отметить, что в случае аллогенной трансплантации можно заранее создать банк стандартизованных и хорошо охарактеризованных МСК, которые можно будет быстро подготовить в любом количестве, что делает потенциально возможным их введение в острейшем периоде ИИ. Важную роль также играет и возврат доноров. Согласно данным эпидемиологических исследований, более 75% всех случаев ИИ приходится на возраст старше 65 лет [59], в связи с этим имеется опасение, что МСК, полученные от доноров старшего возраста, могут оказывать менее выраженное терапевтическое действие, что объясняется естественными процессами старения организма [60]. При лечении таких пациентов с помощью аллогенной трансплантации МСК можно получать от здоровых доноров, что может потенциально отразиться на результатах лечения. Кроме того, наличие банка МСК делает возможным

выполнение генетической модификации стволовых клеток с целью улучшения их терапевтической активности.

Крупнейшее на сегодняшний день рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование II фазы MASTERS по изучению влияния трансплантации аллогенных МСК при ИИ было проведено на базе 33 медицинских центров в США и Великобритании [61]. В исследовании изучалась безопасность и эффективности клеточного продукта «MultiStem» представляющего из себя аллогенные костномозговые МСК, полученные от взрослых доноров [62]. МСК вводились пациентам в дозе 400 млн, либо 1,2 миллиарда клеток внутривенно спустя 24–48 часов от момента заболевания. Безопасность данной технологии подтверждена при введении обеих дозировок МСК, однако при сравнении групп с клеточной терапией с группой плацебо, не была достигнута первичная конечная точка (ожидаемая степень улучшения функционального состояния больных) спустя 90 дней после ИИ. Важно отметить, что при ретроспективном анализе (post-hoc) полученных результатов было показано, что у части больных с функциональным восстановлением все же были статистически значимое улучшение. Эти данные позволили исследователям начать следующий этап клинического испытания – проспективное рандомизированное плацебо-контролируемое двойное слепое исследование III фазы (MASTERS-2) в период между 18 и 36 часами после появления неврологического дефицита. Исследование на текущий момент продолжается, результаты не опубликованы.

В I/II фазе исследовании Levy и соавторами [63] оценивали безопасность и эффективность аллогенных костномозговых МСК, полученных от одного здорового донора. МСК трансплантировали внутривенно в дозе до 1,5 млн клеток на кг массы тела 38 пациентам в позднем восстановительном периоде ИИ (>6 месяцев после начала заболевания). Выявлена безопасность инфузий МСК, у всех пациентов отмечалось выраженное функциональное восстановление по шкале Бартела, но в данном исследовании отсутствовала группа контроля.

Трансплантация модифицированных аллогенных МСК

Группой ученых под руководством доктора Steinberg [64] в I/IIa фазе изучена безопасность и эффективность трансплантации пациентам с ИИ модифицированной линии аллогенных костномозговых МСК под аббревиатурой «SB623». SB623 представляет собой модифицированную линию костномозговых МСК, для получения которых была применена временная трансфекция при помощи плазмиды, содержащей внутриклеточный домен Notch1, что привело к гиперэкспрессии Notch1, важно отметить, что плаزمида Notch1 не реплицируется во время митоза и поэтому быстро теряется во время деления клеток. В доклинических исследованиях установлено, что Notch1-модифицированные МСК обладают нейротрофическим действием, улучшают выживаемость и поддерживают жизнеспособность нейронов при церебральной ишемии, могут улучшать неангиогенез и оказывать противовоспалительное действие [65–68]. На экспериментальных моделях ИИ было также продемонстрировано функциональное восстановление и нейропротективное действие SB623 МСК на нейроны в перинфарктной области, при этом сами трансплантированные клетки в организме реципиента длительное время не сохранились и не оказывали прямого замещающего действия [69]. В клинических исследованиях линия клеток SB623 вводилась стереотаксически в головной мозг 18 пациентам в позднем восстановительном периоде ИИ (от 6 месяцев до 3 лет с момента начала заболевания) в дозах 2,5, 5 или 10 млн клеток. Каждому пациенту выполняли по 20 стереотаксических инъекций в зонах инфаркта мозга. Возникшие побочные эффекты, такие как головная боль, тошнота и рвота, авторы связали с нейрохирургической операцией, а не эффектами трансплантированных клеток. Реакции отторжения трансплантатов не наблюдалось. Было показано значимое функциональное восстановление пациентов через 3, 6 и 12 месяцев. Стоит отметить, что достигнутое клиническое улучшение состояния пациентов сохранялось спустя 2 года после трансплантации [70]. В связи с обнадеживающими результатами начато более крупное

рандомизированное клиническое исследование фазы IIb, результаты которого еще не опубликованы.

Комбинированная трансплантация МСК и других типов стволовых/прогениторных клеток

В доклинических исследованиях установлено, что МСК способны секретировать большой спектр паракринных факторов и оказывать трофическое, нейропротективное, противовоспалительное и иммуномодулирующее действие [46,71]. В связи с этим высказана гипотеза, что совместная (комбинированная) трансплантация МСК вместе с другими типами стволовых/прогениторных клеток, может улучшить приживаемость трансплантата и усилить терапевтические эффекты клеточной терапии. В серии исследований на животных с моделями экспериментального инфаркта головного мозга удалось подтвердить, что комбинированная трансплантация МСК с нейральными [72] или эндотелиальными прогениторными клетками [73] может оказывать более выраженное действие по сравнению с монотерапией только одним видом стволовых/прогениторных клеток [71]. Высказано предположение, что этот феномен может быть связан с синергией терапевтических эффектов двух разных типов стволовых клеток. На основании обнадеживающих данных доклинических исследований было осуществлено несколько клинических исследований, посвященных комбинированной трансплантации МСК и других типов стволовых клеток пациентам с ИИ.

Chen и соавторы [74] провели пилотное клиническое исследование, в котором 10 пациентам с ишемическим или геморрагическим инсультом в позднем восстановительном периоде (от 6 месяцев до 20 лет) трансплантировали аллогенные МСК, полученные из пуповинной крови, совместно с различными фетальными клетками нейрального происхождения (нейральными прогениторными клетками, клетками обонятельной выстилки, шванновскими клетками, выделенными из седалищного нерва). МСК трансплантировали внутривенно, другие типы клеток вводили интрацеребрально или интратекально. В результатах исследования отмечено улучшение клинического состояния пациентов без выраженных побочных явлений, однако число пациентов в каждой группе было очень мало.

Qiao L-Y. и соавторов [74] оценивали безопасность и целесообразность комбинированной трансплантации человеческих фетальных нейральных прогениторных клеток и аллогенных МСК, выделенных пуповинной крови. В исследование было включено 8 пациентов с ИИ с разными сроками после начала заболевания (от 1 недели до 2-х лет). Первой группе пациентов МСК вводились внутривенно 4 раза в дозе 500 тыс. клеток на кг массы тела, во второй группе выполнялась однократная внутривенная их инфузия, после чего три последовательные инъекции МСК и нейральных прогениторных клеток в цистерны мозга. Установлено, что комбинированная трансплантация МСК и нейральных прогениторных клеток может быть безопасна и осуществима. У каждого пролеченного пациента наблюдалось клиническое улучшение, которое также сохранялось в течение 2-х лет после трансплантации, в течение этого периода не наблюдалось органной онкогенной трансформации.

Для подтверждения полученных данных целесообразно дальнейшее проведение рандомизированных плацебо-контролируемых многоцентровых клинических исследований на большой выборке пациентов с ИИ.

Механизмы действия МСК

На сегодняшний день было проведено большое количество доклинических фундаментальных исследований, посвященных изучению не только эффективности, но механизмов действия МСК при экспериментальном ИИ [75]. Несмотря на это, на сегодняшний день у научного сообщества нет единого мнения относительно как МСК обуславливают положительное терапевтического действия при ИИ. Ниже приводятся обобщенные данные, известные на текущий момент, с позиции доказательной медицины.

Несмотря на то, что МСК являются мультипотентными стволовыми клетками и способны к дифференцировке в разные типы клеток мезодермального происхождения, по мнению ряда ученых, они имеют низкий и даже отсутствующий, потенциал к трансдифференцировке в нейрональном (эктодермальном) направлении [20]. С учетом вышесказанного прямой замещающий механизм действия, т.е. дифференцировка в нейральные и/или глиальные клетки в очаге инфаркта головного мозга является маловероятной. Описаны единичные случаи, когда после интрацеребрального введения некоторые из трансплантированных МСК *in vivo* теряли экспрессию специфических маркеров и приобретали нейроноподобный фенотип [76]. В то же время существует множество данных, указывающих на то, что терапевтический потенциал МСК связан с их паракринным действием - способностью секретировать противовоспалительные цитокины, факторы роста, а также экзосомы нагруженные биологически активным карго (микроРНК и т.д.) [77]. Помимо этого, несколько работ свидетельствуют о способности МСК к “клеточному слиянию” (cell fusion) с другими клетками, что может быть одним из механизмов тканевой регенерации [78]. Показано, что при инфузии МСК возможно прямое нейропротективное действие путем переноса компонентов митохондрий и цитоплазмы из трансплантированных МСК в нервные и глиальные клетки реципиента [79]. В ряде исследований после трансплантации МСК было выявлено усиление эндогенного нейрогенеза у животных-реципиентов [80–82].

На данный момент превалирует концепция о том, что паракринный эффект а не способность к клеточной дифференцировке или другие механизмы, лежит в основе терапевтического воздействия МСК [83]. Такое предположение подтверждается тем фактом, что при трансплантации МСК животной модели (мышь) наблюдается терапевтическое воздействие на последствия инфаркта головного мозга, при том, что они, в основном попадают в легкие [84]. К секреторируемым МСК и влияющим на регенерацию тканей, снижение воспаления, ангиогенез и другие процессы, относятся цитокины, модулирующие иммунный ответ, например IL-6, а также регуляторные молекулы VEGF, IGF-1, IGF-2, и PDGF-AA, это подтверждается их детекцией в кондиционной среде, в которой МСК культивировали. Анализ транскриптома выявил также, что МСК человека отличаются от фибробластов, остеобластов, хондриоцитов, адипоцитов (и, предположительно, ряда других типов дифференцированных клеток) повышенной экспрессией ряда молекул, в частности, уровня нейротрофического фактора мозга BDNF примерно в 20 раз, IL-6 в 60 раз, VEGF в 20 раз [85]. Нейропротекторная роль BDNF, секреторируемого человеческими клетками МСК, подтверждена экспериментально [86]. Кроме того, трансплантация МСК может инициировать увеличение продукции VEGF и bFGF клетками реципиента, как было показано на модели ишемии головного мозга у крыс [87]. Примечательно, что IL-6, помимо своей “классической” роли провоспалительного цитокина [88], может выполнять ряд функций, крайне важных в контексте регенерации и стволовости: в поддержании “стволового” фенотипа МСК костного мозга, торможении антиапоптотического воздействия на МСК [89], в определенных условиях способности активировать регенерацию аксонов, что было продемонстрировано на зрелых ганглиозных клетках сетчатки [90].

В настоящее время предпринимаются попытки определить полный молекулярный состав веществ в экзосомах секреторируемых МСК. Так, определен состав молекулярного карго экзосом МСК из жировой ткани, это 591 белок, причем их основными функциями согласно “Генной онтологии” (Gene Ontology) является передача сигнала (GO:0007165), клеточная адгезия (GO:0007155), позитивная регуляция пролиферации (GO:0008284), иммунный ответ (GO:0006955) и т.д. [91]. Также, в составе экзосом выявлены 489 микроРНК из разных семейств микроРНК, превалирующими являются семейства miR-515 и miR-10. Считается, что значительная доля микроРНК в секреторируемых МСК экзосомах находится в виде микроРНК-предшественников [92]. Биоинформатический анализ показывает, что некоторые из них вовлечены в регулирование воспалительных процессов (например, микроРНК hsa-let-7 g-5p, hsa-miR-16-5p, hsa-miR-92a-3p) или негативную регуляцию

активации макрофагов (hsa-miR-124-3p) [93]. Помимо этого, показано, что мишенями микроРНК секретлируемых МСК в составе экзосом могут быть сигнальный путь Wnt, профибротические сигнальные каскады TGF- β и PDGF, а также сигнальные пути, регулирующие клеточную пролиферацию и апоптоз [94].

Иммуномодулирующее действие МСК основывается, в частности главным образом, на их влиянии на поляризацию макрофагов в области повреждения. Поляризация макрофагов в сторону фенотипа M2 (противовоспалительный фенотип) может происходить в ответ на активирующее воздействие ряда цитокинов, таких как IL-4, IL-10, и IL-13. Такая поляризация является одним из ключевых этапов повреждения центральной нервной системы, так как в зависимости от их фенотипа (активации в провоспалительные M1 или противовоспалительные M2) макрофаги могут либо участвовать во вторичном повреждении ткани, либо способствовать ее восстановлению [95]. Показано, что МСК, за счет секреции регуляторных молекул, влияют на поляризацию макрофагов в сторону M2 [96]. Примечательно, что такая поляризация может регулироваться не только цитокинами, но и нуклеиновыми кислотами, входящими в состав молекулярного карго экзосом секретлируемых МСК. Например, такой функцией обладает длинная некодирующая РНК LncGm37494, способная стимулировать поляризацию макрофагов в направлении M2, за счет ингибирования микроРНК miR-130b-3p и стимулирования экспрессии PPAR γ [97].

Далее, они могут влиять на баланс субпопуляций Т-клеток, в частности Treg Th17, как было показано *in vitro* [98], что в свою очередь может приводить к восстановлению поврежденной ткани. Также, они воздействуют на Vreg клетки, (механизм такого воздействия мало изучен) [99]. При этом и Treg и Vreg — это ключевые супрессоры воспаления и аутоиммунных реакций.

МСК могут влиять на состояние внеклеточного матрикса (ВКМ) - важнейшего компонента клеточного микроокружения, регулирующего клеточную дифференцировку, миграцию, и восстановление поврежденной ткани. МСК продуцируют и депонируют компонент ВКМ фибронектин, что в свою очередь может способствовать регенерации ткани, как это продемонстрировано на модели спинномозговой травмы [100].

Наконец, МСК секретлируют проангиогенные факторы, что подробно освещено в недавних публикациях. К таким факторам относятся факторы роста, регуляторные нуклеиновые кислоты, в том числе секретлируемые в составе внутриклеточных везикул. МСК секретлируют в составе экзосом факторы EGF, FGF-2, ANGPT1, ANG, PDGF, TGF-alpha, TGF-beta, VEGF [101], регуляторные нуклеиновые кислоты, влияющие на ангиогенез, к таковым относятся проангиогенные микроРНК, в частности, miR-30b [102].

Стратегии развития клеточной терапии с использованием МСК

Ни в одном из проведенных на текущий момент клинических исследований у пациентов с ИИ после трансплантации МСК не было выявлено серьезных побочных эффектов. Во всех исследованиях отмечалась тенденция к улучшению состояния пациентов и уменьшение выраженности неврологического дефицита. Но важно отметить, что в отличие от доклинических исследований на животных, в тех, где была проведена рандомизация пациентов и включена группа контроля, не у всех было продемонстрировано статистически значимое положительное влияние клеточной терапией МСК по сравнению с группой контроля. Среди возможных причин недостаточно выраженного клинического эффекта можно отметить неоптимальные параметры клеточной трансплантации и критерии включения пациентов в исследования, такие как: ограниченное «терапевтическое окно», разброс в сроках инфузии МСК до нескольких месяцев, проведение терапии в позднем восстановительном периоде ИИ, включение в группу сравнения пациентов с большой разницей в возрасте (от детского/юношеского возраста до старческого), введение аутологических МСК, взятых от доноров пожилого и старческого возраста. Очень важные факторы - выбор способа трансплантации и кратности введения МСК. В большинстве проведенных исследований МСК вводились внутривенно однократно или дважды в период терапии. По данным послед-

них доклинических исследований продемонстрирована высокая эффективность внутриартериального способа введения стволовых клеток, благодаря которому возможно осуществить адресную доставку трансплантированных клеток в церебральные сосуды, минуя паренхиматозные органы [44]. Выбор оптимального терапевтического окна и способа трансплантации напрямую зависит от предполагаемых механизмов действия стволовых клеток, которые необходимо еще изучать.

Одно из стратегий дальнейшего развития клеточной терапии ИИ является модификация и унификация протоколов использования МСК с целью их оптимизации. В настоящий момент, основываясь на первых результатах, в ряде стран начаты рандомизированные плацебо-контролируемые многоцентровые клинические исследования на большой выборке пациентов с модифицированными протоколами клеточной трансплантации, результаты которых будут известные в течение ближайших нескольких лет [103].

Помимо продолжения клинических испытаний крайне важной стратегией развития клеточной терапии с использованием МСК является и продолжение трансляционных фундаментальных исследований на моделях экспериментального инфаркта головного мозга у лабораторных животных с целью уточнения механизмов действия трансплантированных стволовых клеток и оптимизации протоколов трансплантации для их последующего внедрения в клиническую практику. В трансляционных исследованиях целесообразна оценка эффективности терапии МСК у животных обоих полов, разных возрастов с сопутствующей патологией, (сахарный диабет, артериальная гипертензия) [104,105]. Также целесообразно изучение механизмов терапевтического действия МСК и способов их усиления, например, применение комбинированной трансплантации МСК совместно с нейрональными прогениторными клетками, полученным современными методами без использования тканей эмбриона и плода человека [34,106]. Для оценки эффективности клеточной терапии МСК в доклинических исследованиях важно использование объективных количественных методов оценки терапии, в частности степени выраженности неврологического дефицита, например, кинематики движений парализованной конечностью, оценка объема очага инфаркта головного мозга и т.п.. Более широкое внедрение новых методов на доклиническом уровне, позволит в будущем выбрать наилучшие способы объективизации результатов оценки клеточной терапии и использовать их при создании дизайна клинических исследований. Оценка объема очага инфаркта головного мозга является одним из наиболее важных объективных количественных параметров оценки качества клеточной терапии. Морфометрический анализ очага инфаркта мозга может быть осуществлён в экспериментальных исследованиях, главным образом, при помощи гистологического исследования [107,108] и/или использования магнитно-резонансной томографии (МРТ) [107,108]. В доклинических исследованиях на экспериментальных моделях церебральной ишемии использование МРТ позволяет оценивать динамику изменения объема очага инфаркта головного мозга без необходимости выведения животных из эксперимента для проведения гистологического анализа для каждой временной точки. При переносе на клинические исследования МРТ позволяет прижизненно, *in vivo*, объективно оценивать у пациента динамику развития патологического процесса в головном мозге до и после лечения [109–111]. Для количественной оценки получаемых данных МРТ перспективным методом является полностью автоматический подход с использованием параметрического анализа изображений [112] или свёрточных нейронных сетей [113]. Таким образом максимально нивелируется субъективный вклад оператора при оценке полученных им данных. Однако, процесс выполнения морфометрического анализа очага инфаркта головного мозга для повышения объективности оценки необходимо стандартизировать, получить готовый и верифицированный инструмент чтобы оптимально использовать его при поступлении пациента в стационар. Одним из методов является способ сегментации [114] путём выделения интересующей области на серии изображений. Данный подход позволяет избегать ошибок ввиду субъективности оценки объема очага оператором или нескольких операторов без усреднения их оценки.

Разработка и апробация способов автоматической объективной оценки эффективности клеточной терапии при инфаркте головного мозга в доклинических и клинических исследованиях способно создать прочный фундамент для качественной оценки полученных результатов

Заключение

Таким образом, на основании анализа проведенных клинических испытаний эффективности клеточной терапии ИИ, можно сделать вывод, что трансплантация МСК является безопасной и целесообразной с экономической и медико-биологической точек зрения. Целесообразно продолжение исследований в этом направлении, в том числе начало первых клинических испытаний на территории Российской Федерации. Для дальнейшего внедрения данной перспективной технологии терапии ИИ в клиническую практику необходимо проведение клинических исследований на большой выборке пациентов с рандомизацией и адекватным подбором группы контроля, модификацией критериев включения пациентов в исследование и протоколов трансплантации МСК, соответствующих высокой степени доказательности. Не менее важно продолжение фундаментальных доклинических исследований по изучению механизмов действия клеточной терапии, выбору наиболее оптимального временного окна, способов и кратности введения стволовых клеток.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-00300). Работа Чудаковой Д.А. выполнена при поддержке ФМБА России.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Наместникова Д.Д., Коваленко Д.Б., Покусаева И.А., Чудакова Д.А. – сбор и анализ данных, написание рукописи, концепция и дизайн, редактирование рукописи; Губский И.Л., Ярыгин К.Н., Баклаушев В.П. – написание рукописи, концепция и дизайн, редактирование рукописи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 23-25-00300). Work by Chudakova D.A. carried out with the support of the Federal Medical and Biological Agency of Russia.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. Namestnikova D.D., Kovalenko D.B., Pokusaeva I.A., Chudakova D.A. – data collection and analysis, manuscript writing, editing, research concept and design; Gubskiy I.L., Yarygin K.N., Baklaushev V.P. – manuscript writing, editing, research concept and design. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

ОБ АВТОРАХ	AUTHORS' INFO
Автор, ответственный за переписку:	The author responsible for the correspondence
Наместникова Дарья Дмитриевна, к.м.н., н.с.;	Daria D. Namestnikova , MD, PhD, research associate;
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6635-	ORCID:

511X eLibrary SPIN: 1576-1860; e-mail: dadnam89@gmai.com	511X eLibrary SPIN: 1576-1860; e-mail: dadnam89@gmai.com
Коваленко Дарья Борисовна; e-mail: daarr.iii01@gmail.com	Daria B. Kovalenko; e-mail: daarr.iii01@gmail.com
Покусаева Ирина Алексеевна; e-mail: pokusaeva.i@yandex.ru	Irina A. Pokusaeva; e-mail: pokusaeva.i@yandex.ru
Чудакова Дарья Александровна, к.б.н., с.н.с.; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9354-6824 eLibrary SPIN: 1410-9581; e-mail: daria.chd@gmail.com	Chudakova A. Daria, Ph.D., Senior Research Associate; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9354-6824 eLibrary SPIN: 1410-9581; e-mail: daria.chd@gmail.com
Губский Илья Леонидович, к.м.н., с.н.с.; ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1726-6801 eLibrary SPIN: 9181-3091; e-mail: gubskiy.ilya@gmail.com	Илья L. Gubskiy, MD, PhD, Senior Research Associate; ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1726-6801 eLibrary SPIN: 9181-3091; e-mail: gubskiy.ilya@gmail.com
Ярыгин Константин Никитич, д.б.н., профессор; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2261-851X eLibrary SPIN: 7567-1230; e-mail: kyarygin@yandex.ru	Yarygin N. Konstantin, Doctor of Biological Sciences, Professor; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2261-851X eLibrary SPIN: 7567-1230; e-mail: kyarygin@yandex.ru
Баклаушев Владимир Павлович, д.м.н., доцент; ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1039-4245 ; eLibrary SPIN: 3968-2971; e-mail: baklaushev.vp@fnkc-fmba.ru	Vladimir P. Baklaushev, Dr. Sci. (Medicine), Assistant Professor; ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1039-4245 ; eLibrary SPIN: 3968-2971; e-mail: baklaushev.vp@fnkc-fmba.ru

Таблица 1. Результаты основных клинических исследований, посвященных по клеточной терапии ишемического инсульта.
 Table 1. The results of the main clinical studies devoted to the cell therapy of ischemic stroke.

Год	Название исследования, ссылка	Фаза	Количество пациентов	Возрастная категория	Время трансплантации	Тип МСК	Пути введения	Сроки наблюдения	Эффективность	Побочные эффекты
2005	Autologous Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Stroke Patients Bang и др. [50]	I/II	30. Группа с терапией МСК – 5, контрольная группа – 25	30–75 лет	Через 4–5 (первое введение) и через 7–9 недель (второе введение) после возникновения симптома	Аутологичные костномозговые МСК, введенные начальной дозой 50 млн и через 2 недели дополнительной дозой 50 млн клеток	Внутривенная трансплантация	1 год	Все показатели пациентов, получавших МСК, улучшились в соответствии с NIHSS, однако степень улучшения со дня первого введения до 1 года после появления симптомов была незначительной.	Не выявлено смертей, рецидивов инсульта и серьезных побочных эффектов, связанных с клетками. Ни у одного пациента не было выявлено структурных изменений в головном мозге после инфузии МСК по сравнению с исходным уровнем.

2010	A Long-Term Follow-Up Study of Intravenous Autologous Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Patients With Ischemic Stroke Lee и др. [51]	I/II	52. Группа с терапией МСК – 16, контрольная группа – 36	30–75 лет	Через 4–5 (первое введение) и через 7–9 недель (второе введение) после появления симптомов	Аутологичные костномозговые МСК, введенные начальной дозой 50 млн и через 2 недели дополнительной дозой 50 млн клеток	Внутривенная трансплантация	5 лет	В группе с клеточной терапией наблюдался более высокий уровень функционального восстановления и более низкая смертность по сравнению с контрольной группой. По данным МРТ клиническое улучшение пациентов коррелировало с сохранностью субвентрикулярной зоны.	Ни у одного из пациентов в группе МСК не было выявлено миоклонуса, быстро прогрессирующей деменции, или атаксии, что указывало бы на прионное заболевание (в результате использования бычьей сыворотки).
2011	Intravenous administration of autoserum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke Honmou и др.	I	Группа с терапией МСК – 12	20–75 лет	Через 36–133 дней после инсульта	Аутологичные мезенхимальные стволовые клетки, выращенные в аутологичной сыворотке человека, введенные в дозе от	Внутривенная трансплантация	1 год	В группе пациентов с клеточной терапией была отмечена тенденция к уменьшению неврологического дефицита и выявлено значимое уменьшение размеров очага инфаркта мозга спустя 1 неделю после	Серьезные побочные эффекты не обнаружены. Не наблюдалось опухолей ЦНС, неврологических нарушений, венозной тромбоэмболии, системной инфекции ни у одного из пациентов.

	др. [52]					0,6 до $1,6 \times 10^8$ клеток каждому пациенту			трансплантации.	
2011	Autologous Mesenchymal Stem Cells in Chronic Stroke Bhasin и др. [53]	I/II	12. Группа с терапией МСК – 6, контрольная группа – 6	28–60 лет	МСК вводились пациентам, у которых был диагностирован инсульт давностью от 3 месяцев до 1 года	Аутологичные костномозговые МСК, культивированные на бессывороточной среде и введенные в дозе $50-60 \times 10^6$	Внутривенная трансплантация	6 месяцев	В группе с клеточной терапией МСК прослеживалась тенденция к уменьшению степени выраженности неврологического дефицита, однако при сравнении с контрольной группой эти изменения были статистически не значимыми.	Во время и после трансплантации не наблюдалось ранних и поздних побочных реакций. Не зарегистрировано ни одного смертельного исхода. Не сообщалось об онкогенезе.
2013	Stem cell therapy: A clinical trial of stroke Bhasin и др. [54]	I/II	40. Группа с терапией МСК – 6, группа с терапией моноклеарными СК – 14, контрольная	18–65 лет	МСК вводились пациентам, у которых был диагностирован инсульт давнос-	Аутологичные МСК и моноклеарные СК, введенные в дозе 50–60 млн клеток	Внутривенная трансплантация в локтевую вену	6 месяцев	Среди параметров только mVI показал статистически значимое улучшение в группе с терапией МСК. В целом, исходные клинические и рентгенологические показатели между	Не было никаких ранних и поздних побочных реакций во время и после трансплантации.

			группа – 20		тью от 3 месяцев до 2 лет				экспериментальной и контрольной группами были статистически незначимыми.	
2018	Autologous Endothelial Progenitor Cells Transplantation for Acute Ischemic Stroke: A 4-Year Follow-Up Study Fang и др. [55]	I/II a	18. Группа с терапией МСК – 6, плацебо группа – 6, группа с эндотелиальными прогениторными клетками – 6	18–80 лет	Условие включения в группу – спустя одну неделю от момента начала заболевания. Инфузия СК – на 4 неделе после отбора.	Аутологичные костномозговые МСК и эндотелиальные прогениторные клетки, введенные в первоначальной дозе $2,5 \times 10^6$ и затем через неделю в дополнительной дозе $2,5 \times 10^6$ клеток/кг массы тела	Внутривенная трансплантация	4 года	Между тремя группами не наблюдалось существенной разницы в неврологическом или функциональном исходе, за исключением оценки по Скандинавской шкале инсульта через 3 месяца между группой с терапией эндотелиальными прогениторными клетками и плацебо-контролируемой группой.	В группе с терапией эндотелиальными прогениторными клетками было меньше серьезных побочных эффектов по сравнению с плацебо-контролируемой группой. Статистических различий в смертности между тремя группами выявлено не было.
2017	Safety and efficacy of multipotent adult progenitor cells	II	129. Группа с терапией МСК - 67 пациентов,	18–83 года	Инфузия МСК - в течение 12–48 часов	Аллогенные МСК (мультипотентные прогениторн	Внутривенное введение в дозе 400 млн клеток на кг веса для 1	3 года	Введение МСК было безопасным и хорошо переносимым. Положительный	Ни в одной из групп не было выявлено серьезных побочных эффектов. Не встречалось

	in acute ischaemic stroke (MASTERS): a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial David C Hess и др. [61]		контрольная группа - 62 пациента		после появления первых признаков инсульта	ые клетки костного мозга)	группы, и в дозе 1200 млн клеток на кг веса для 2 группы		терапевтический эффект наблюдался при ранней трансплантации МСК в течение 12–36 часов.	аллергических реакций, не наблюдалось также разницы в возникающих побочных эффектах между группами.
2019	Phase I/II Study of Safety and Preliminary Efficacy of Intravenous Allogeneic Mesenchymal Stem Cells in Chronic Stroke Michael L. Levy и др. [63]	I/II	36. Трое пациентов в выбыли из наблюдения. Двое пациентов умерли по причинам, не связанным с исследуемым лечением	Средний возраст пациентов - 61 год	Условие включения - оценка более 6 месяцев с момента инсульта	Аллогенные мезенхимальные стволовые клетки	Внутривенное введение в дозе 1,5 млн клеток/кг	12 месяцев	Показатели Barthel Index увеличились на $6,8 \pm 11,4$ балла (средний \pm SD) через 6 месяцев ($P=0,002$) и на $10,8 \pm 15,5$ балла через 12 месяцев ($P<0,001$) после инфузии; доля пациентов, достигших отличного функционального результата (оценка Бартела ≥ 95), увеличилась с 11,4% на исходном	Легкие побочные явления: инфекция мочевыводящих путей и раздражение в месте внутривенного введения.

									уровне до 27,3% через 6 месяцев и до 35,5% через 12 месяцев	
2016	<p>Clinical Outcomes of Transplanted Modified Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Stroke: A Phase 1/2a Study</p> <p>Gary K. Steinberg и др. [64]</p>	I/II а	18 (2 пациента были потеряны для последующего наблюдения)	От 18 до 75 лет. Средний возраст пациентов - 61 год	Условие включены в группу - среднее время после инсульта от 7 до 36 месяцев. Инфузия МСК - через 3 недели после включения	Модифицированная линия костномозговых МСК «SB623»	Имплантация проводилась интратекально с помощью стереотаксической техники и МРТ. 18 пациентов (3 когорты по 6 пациентов в каждой) получили разовые дозы по $2,5 \times 10^6$, $5,0 \times 10^6$ или 10×10^6 SB623 клеток	2 года	<p>Оценка клинических исходов с использованием баллов ESS, NIHSS. Общий балл (SD) ESS на базовом уровне составил 58,4 (6,3), у всех наблюдалось значительное улучшение начиная с 1 месяца. Общий балл (SD) NIHSS на базовом уровне составил 9,3 (1,7), что значительно лучше исходных. Улучшение показателей ESS, NIHSS и F-M стабилизировалось через 12 месяцев и не снижалось в течение последующего наблюдения</p>	<p>Серьезных побочных эффектов, приведших к исключению пациентов из эксперимента не выявлено не было. Наиболее часто встречаемыми были головная боль, связанная с хирургической процедурой, а также наблюдались тошнота, депрессия, мышечная спастика, рвота (могли быть связаны с ИИ)</p>

2014	<p>A Two-Year Follow-Up Study of Cotransplantation with Neural Stem/Progenitor Cells and Mesenchymal Stromal Cells in Ischemic Stroke Patients</p> <p>Li-Yan Qiao и др. [74]</p>		8 (2 пациента отозвали свое согласие на участие в исследовании после первой и второй трансплантации)	3–85 лет	Трансплантация в остром периоде (<1 неделя с момента начала), а также раннем и позднем восстановительном периодах (от 1 недели до 2х лет года с момента инсульта)	Аллогенные мезенхимальные клетки пуповины	Пациенты были разделены на две группы: первой группе были проведены четыре внутривенные инфузии MSC (0,5 × 10 ⁶ /кг веса в 250 мл физиологического раствора). Второй группе была введена внутривенная инфузия MSC (0,5 × 10 ⁶ /кг веса в 250 мл физиологического раствора), вслед за которой последовал и три	2 года	У 5 пациентов наблюдалось снижение баллов NIHSS более чем на 2 единицы (клиническое улучшение) через 3 месяца после трансплантации клеток. Пациенты, получившие четыре внутривенные инфузии, продемонстрировал и более низкие баллы NIHSS, по сравнению со второй группой	Наиболее распространенным побочным эффектом трансплантации стволовых клеток было снижение температуры 2–4 дня после инфузии.
------	--	--	--	----------	---	---	---	--------	---	--

						процедуры MSC (5 × 10 ⁶ /пациент) и NSPC (6 × 10 ⁶ /пациент) в 10 мл физиологического раствора, который вводился через мозжечковую цистерну под местной субдермальной анестезией с 2% лидокаином. Интервал между введениями клеток составлял 1 неделю			
2021	Efficacy of Intravenous Mes-	54. В анализ были	30–75 лет	Инфузия МСК - в течение	Аутологичные мезенхимал	Внутривенная инфузия		Коэффициент по шкале Fugl-Meyer был значительно	Серьезных побочных эффектов в ходе

	enchymal Stem Cells for Motor Recovery After Ischemic Stroke: A Neuroimaging Study Jungsoo Lee и др. [115]		включены 44 пациента. Группа с клеточной терапией МСК - 31 пациент, контрольная группа - 13		90 дней после появления симптома в инсульта	льные стволовые клетки костного мозга			выше в группе с клеточной терапией МСК по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о восстановлении двигательной активности. Межполушарные связи значительно улучшились только в группе МСК	исследования выявлено не было
2020	Autologous Mesenchymal Stem Cells Improve Motor Recovery in Subacute Ischemic Stroke: a Randomized Clinical Trial Assia Jailard и др. [116]	II	31. Группа с клеточной терапией МСК - 16 пациентов, контрольная группа - 15	18–70 лет	Условие включения - 10–15 суток от момента инсульта. Инфузия МСК - МСК введены через 3 недели	Аутологичные мезенхимальные стволовые клетки костного мозга	Внутривенное введение	2 года	Было отмечено улучшение клинических показателей двигательной активности.	Нежелательных явлений при взятии образцов костного мозга не отмечено. Побочных эффектов, связанных с введением МСК выявлено не было
2021	Allogeneic	IIb	30.	18–80 лет	Инфузия	Аллогенные	Внутривенно	2 года	Наблюдалась	Не было

	Adipose Tissue-derived Mesenchymal Stem Cells in Ischemic Stroke. A Phase IIB Multicenter Double Blind Placebo Controlled Clinical Trial Elena de Celis-Ruiz и др. [117]				МСК - в течение первых 4 дней с момента появления симптомов инсульта.	мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани	с введением в дозе 10^6 клеток/кг веса.		тенденция к улучшению показателя NIHSS в группе лечения AD-MSC по сравнению с контрольной группой	зафиксировано серьезных побочных эффектов
2022	Circulating Extracellular Vesicles in Stroke Patients Treated With Mesenchymal Stem Cells: A Biomarker Analysis of a Ran-	II	54. Терапия MSC – 39 Контрольная группа – 15	30–75 лет	Введение через 37–75 дней после появления симптомов	Аутологичные MSC, введенные в дозе 1 млн клеток/кг	Внутривенная трансплантация	90 дней для терапии MSC, 120 дней для контрольной группы	Лечение MSC значительно увеличивало (примерно в 5 раз) уровень циркулирующие внеклеточные везикулы (а также уровень микроРНК в них, связанных с нейрогенезом/нейропластичностью) в крови пациентов через 24 часа после трансплантации.	Серьезные побочные эффекты не были выявлены.

	domized Trial								Увеличение уровня микровезикул коррелировал с восстановлением моторной функции и восстановлени- ем проводящих пу- тей по данным МРТ при апостериорном анализе.	
--	------------------	--	--	--	--	--	--	--	---	--

IN PRESS

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kim J., Thayabaranathan T., Donnan G.A., et al. Global Stroke Statistics 2019. *International Journal of Stroke* 2020; 15(8): 819–838. doi: 10.1177/1747493020909545.
2. Pu L., Wang L., Zhang R., et al. Projected Global Trends in Ischemic Stroke Incidence, Deaths and Disability-Adjusted Life Years From 2020 to 2030. *Stroke* 2023; 54(5): 1330–1339. doi: 10.1161/STROKEAHA.122.040073.
3. Гудкова В.В., Кимельфельд Е.И., Белов С.Е. Отек головного мозга: от истоков описания к современному пониманию процесса. *Consilium Medicum* 2021; 23(2): 131–135. doi: 10.26442/20751753.2021.2.200604.
4. Ignatyeva V.I., Voznyuk I.A., Shamalov N.A., et al. Social and economic burden of stroke in Russian Federation. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova* 2023; 123(8): 5. doi: 10.17116/jnevro20231230825.
5. Feigin V.L., Stark B.A., Johnson C.O., et al. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Neurology* 2021; 20(10): 795–820. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.
6. The top 10 causes of death [Electronic resource] URL: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (accessed: 09.05.2022).
7. Число умерших по основным классам причин смерти. Демография. Федеральная служба государственной статистики. [Electronic resource] URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/12781#> (accessed: 08.11.2023).
8. Soldatov M.A., Klimov L.V., Tolmachev A.P., et al. Intravenous thrombolytic therapy of ischemic stroke with the drug Revelisa in real clinical practice: results of the IVT-AIS-R study. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova* 2022; 122(12): 42. doi: 10.17116/jnevro202212212242.
9. Акжигитов Р.Г., Алекян Б.Г., Алферова В.В. Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых : Клинические рекомендации. 2021; 181 p.
10. Powers W.J., Rabinstein A.A., Ackerson T., et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: 2019 update to the 2018 guidelines for the early management of acute ischemic stroke a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke A. *Stroke* 2019; 50(12): E344–E418. doi: 10.1161/STR.0000000000000211.
11. Nogueira R.G., Jadhav A.P., Haussen D.C., et al. Thrombectomy 6 to 24 hours after stroke with a mismatch between deficit and infarct. *New England Journal of Medicine* 2018; 378(1): 11–21. doi: 10.1056/NEJMoa1706442.
12. Fedin A.I., Badalyan K.R. Review of clinical guidelines for the treatment and prevention of ischemic stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii imeni S.S. Korsakova* 2019; 119(8): 95–100. doi: 10.17116/jnevro201911908295.
13. Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Ясаманова А.Н. Тромболитическая терапия ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2018; 118(12–2): 4–14. doi: 10.17116/jnevro20181181224.
14. Horwitz E.M., Le Blanc K., Dominici M., et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005; 7(5): 393–395. doi: 10.1080/14653240500319234.
15. Jin Q.-H., Kim H.-K., Na J.-Y., et al. Anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cell-conditioned media inhibited macrophages activation in vitro. *Scientific Reports* 2022; 12(1): 4754. doi: 10.1038/s41598-022-08398-4.
16. Pang Q.-M., Chen S.-Y., Fu S.-P., et al. Regulatory Role of Mesenchymal Stem Cells on Secondary Inflammation in Spinal Cord Injury. *Journal of Inflammation Research* 2022; Volume 15: 573–593. doi: 10.2147/JIR.S349572.

17. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315–317. doi: 10.1080/14653240600855905.
18. Mikael P.E., Willard C., Koyee A., et al. Remodeling of Glycosaminoglycans During Differentiation of Adult Human Bone Mesenchymal Stromal Cells Toward Hepatocytes. *Stem Cells and Development* 2019; 28(4): 278–289. doi: 10.1089/scd.2018.0197.
19. Gao Q., Guo M., Jiang X., et al. A Cocktail Method for Promoting Cardiomyocyte Differentiation from Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells International* 2014; 2014: 1–11. doi: 10.1155/2014/162024.
20. Scuteri A., Miloso M., Foudah D., et al. Mesenchymal Stem Cells Neuronal Differentiation Ability: A Real Perspective for Nervous System Repair? *Current Stem Cell Research & Therapy* 2011; 6(2): 82–92. doi: 10.2174/157488811795495486.
21. Lee B.B., Cripps R.A., Fitzharris M., et al. The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: Update 2011, global incidence rate. *Spinal Cord* 2014; 52(2): 110–116. doi: 10.1038/sc.2012.158.
22. Gartner S., Kaplan H.S. Long-term culture of human bone marrow cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1980; 77(8): 4756–4759. doi: 10.1073/pnas.77.8.4756.
23. Kim D.-W., Staples M., Shinozuka K., et al. Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells: Phenotypic Characterization and Optimizing Their Therapeutic Potential for Clinical Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 2013; 14(6): 11692–11712. doi: 10.3390/ijms140611692.
24. Fei X., Jiang S., Zhang S., et al. Isolation, Culture, and Identification of Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cell Biochemistry and Biophysics* 2013; 67(2): 689–694. doi: 10.1007/s12013-013-9558-z.
25. Secunda R., Vennila R., Mohanashankar A.M., et al. Isolation, expansion and characterisation of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, umbilical cord blood and matrix: a comparative study. *Cytotechnology* 2015; 67(5): 793–807. doi: 10.1007/s10616-014-9718-z.
26. Pierdomenico L., Bonsi L., Calvitti M., et al. Multipotent Mesenchymal Stem Cells with Immunosuppressive Activity Can Be Easily Isolated from Dental Pulp. *Transplantation* 2005; 80(6): 836–842. doi: 10.1097/01.tp.0000173794.72151.88.
27. Elahi K.C., Klein G., Avci-Adali M., et al. Human mesenchymal stromal cells from different sources diverge in their expression of cell surface proteins and display distinct differentiation patterns. *Stem Cells International* 2016; 2016(5646384): 1–9. doi: 10.1155/2016/5646384.
28. Griffin M.D., Ritter T., Mahon B.P. Immunological Aspects of Allogeneic Mesenchymal Stem Cell Therapies. *Human Gene Therapy* 2010; 21(12): 1641–1655. doi: 10.1089/hum.2010.156.
29. Kenmuir C.L., Wechsler L.R. Update on cell therapy for stroke. *Stroke and vascular neurology* 2017; 2(2): 59–64. doi: 10.1136/svn-2017-000070.
30. Neri S. Genetic Stability of Mesenchymal Stromal Cells for Regenerative Medicine Applications: A Fundamental Biosafety Aspect. *International journal of molecular sciences* 2019; 20(10) doi: 10.3390/ijms20102406.
31. Namestnikova D.D., Tairova R.T., Sukhinich K.K., et al. Cell therapy for ischemic stroke. Stem cell types and results of preclinical trials. *Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii imeni S.S. Korsakova* 2018; 118(9): 69–75. doi: 10.17116/jnevro201811809269.
32. Rascón-Ramírez F.J., Esteban-García N., Barcia J.A., et al. Are We Ready for Cell Therapy to Treat Stroke? *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 2021; 9: 621645. doi: 10.3389/fcell.2021.621645.
33. Cherkashova E., Namestnikova D., Leonov G., et al. Comparative study of the efficacy of intra-arterial and intravenous transplantation of human induced pluripotent stem cells-derived neural progenitor cells in experimental stroke. *PeerJ* 2023; 11: e16358. doi: 10.7717/peerj.16358.

34. Namestnikova D.D., Gubskiy I.L., Revkova V.A., et al. Intra-Arterial Stem Cell Transplantation in Experimental Stroke in Rats: Real-Time MR Visualization of Transplanted Cells Starting With Their First Pass Through the Brain With Regard to the Therapeutic Action. *Frontiers in Neuroscience* 2021; 15: 179. doi: 10.3389/fnins.2021.641970.
35. Sukhinich K.K., Namestnikova D.D., Gubskii I.L., et al. Distribution and Migration of Human Placental Mesenchymal Stromal Cells in the Brain of Healthy Rats after Stereotaxic or Intra-Arterial Transplantation. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2020; 168(4): 542–551. doi: 10.1007/s10517-020-04750-8.
36. Cherkashova E.A., Burunova V. V., Bukharova T.B., et al. Comparative Analysis of the Effects of Intravenous Administration of Placental Mesenchymal Stromal Cells and Neural Progenitor Cells Derived from Induced Pluripotent Cells on the Course of Acute Ischemic Stroke in Rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2019; 166(4): 558–566. doi: 10.1007/s10517-019-04392-5.
37. Cherkashova E.A., Namestnikova D.D., Gubskiy I.L., et al. Dose-Dependent Effects of Intravenous Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Rats with Acute Focal Cerebral Ischemia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2022 173:4 2022; 173(4): 514–518. doi: 10.1007/S10517-022-05573-5.
38. Cherkashova E.A., Namestnikova D.D., Gubskiy I.L., et al. Dynamic MRI of the Mesenchymal Stem Cells Distribution during Intravenous Transplantation in a Rat Model of Ischemic Stroke. *Life* 2023; 13(2): 288. doi: 10.3390/life13020288.
39. Namestnikova D.D., Gubskiy I.L., Cherkashova E.A., et al. Therapeutic Efficacy and Migration of Mesenchymal Stem Cells after Intracerebral Transplantation in Rats with Experimental Ischemic Stroke. *Bulletin of experimental biology and medicine* 2023; 175(1): 116–125. doi: 10.1007/s10517-023-05822-1.
40. Zhang X. Le, Zhang X.G., Huang Y.R., et al. Stem Cell-Based Therapy for Experimental Ischemic Stroke: A Preclinical Systematic Review. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 2021; 15: 628908. doi: 10.3389/fncel.2021.628908.
41. Barbash I.M., Chouraqui P., Baron J., et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: Feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 2003; 108(7): 863–868. doi: 10.1161/01.CIR.0000084828.50310.6A.
42. Boltze J., Arnold A., Walczak P., et al. The dark side of the force – constraints and complications of cell therapies for stroke. *Frontiers in Neurology* 2015; 6: 155. doi: 10.3389/fneur.2015.00155.
43. Vasconcelos-dos-Santos A., Rosado-de-Castro P.H., Lopes de Souza S.A., et al. Intravenous and intra-arterial administration of bone marrow mononuclear cells after focal cerebral ischemia: Is there a difference in biodistribution and efficacy? *Stem Cell Research* 2012; 9(1): 1–8. doi: 10.1016/j.scr.2012.02.002.
44. Guzman R., Janowski M., Walczak P. Intra-arterial delivery of cell therapies for stroke. *Stroke* 2018; 49(5): 1075–1082. doi: 10.1161/STROKEAHA.117.018288.
45. Toyoshima A., Yasuhara T., Kameda M., et al. Intra-Arterial Transplantation of Allogeneic Mesenchymal Stem Cells Mounts Neuroprotective Effects in a Transient Ischemic Stroke Model in Rats: Analyses of Therapeutic Time Window and Its Mechanisms. *PLoS ONE* / ed. Arumugam T. V. 2015; 10(6): e0127302. doi: 10.1371/journal.pone.0127302.
46. Li W., Shi L., Hu B., et al. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Stroke: Current Understanding and Challenges. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 2021; 15(628940): 1–12. doi: 10.3389/fncel.2021.628940.
47. Zhou L., Zhu H., Bai X., et al. Potential mechanisms and therapeutic targets of mesenchymal stem cell transplantation for ischemic stroke. *Stem Cell Research & Therapy* 2022 13:1 2022; 13(1): 1–15. doi: 10.1186/S13287-022-02876-2.
48. Zhuang W.Z., Lin Y.H., Su L.J., et al. Mesenchymal stem/stromal cell-based therapy:

- mechanism, systemic safety and biodistribution for precision clinical applications. *Journal of Biomedical Science* 2021; 28(1): 1–38. doi: 10.1186/s12929-021-00725-7.
49. Yong K.W., Choi J.R., Mohammadi M., et al. Mesenchymal stem cell therapy for ischemic tissues. *Stem Cells International* 2018; 2018(4) doi: 10.1155/2018/8179075.
 50. Bang O.Y., Lee J.S., Lee P.H., et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Annals of Neurology* 2005; 57(6): 874–882. doi: 10.1002/ana.20501.
 51. Lee J.S., Hong J.M., Moon G.J., et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem cells (Dayton, Ohio)* 2010; 28(6): 1099–1106. doi: 10.1002/stem.430.
 52. Honmou O., Houkin K., Matsunaga T., et al. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke. *Brain* 2011; 134(6): 1790–1807. doi: 10.1093/brain/awr063.
 53. Bhasin A., Srivastava M.V.P., Kumaran S.S., et al. Autologous Mesenchymal Stem Cells in Chronic Stroke. *Cerebrovascular Diseases Extra* 2011; 1(1): 93–104. doi: 10.1159/000333381.
 54. Bhasin A., Padma Srivastava M.V., Mohanty S., et al. Stem cell therapy: A clinical trial of stroke. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 2013; 115(7): 1003–1008. doi: 10.1016/j.clineuro.2012.10.015.
 55. Fang J., Guo Y., Tan S., et al. Autologous Endothelial Progenitor Cells Transplantation for Acute Ischemic Stroke: A 4-Year Follow-Up Study. *Stem Cells Translational Medicine* 2019; 8(1): 14–21. doi: 10.1002/sctm.18-0012.
 56. Wang Y., Huang J., Gong L., et al. The Plasticity of Mesenchymal Stem Cells in Regulating Surface HLA-I. *iScience* 2019; 15: 66–78. doi: 10.1016/j.isci.2019.04.011.
 57. Lee H.J., Kang K.S., Kang S.Y., et al. Immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells derived from umbilical cord blood. *Journal of Veterinary Science* 2016; 17(3): 289–297. doi: 10.4142/jvs.2016.17.3.289.
 58. Le Blanc K., Tammik C., Rosendahl K., et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Experimental Hematology* 2003; 31(10): 890–896. doi: 10.1016/S0301-472X(03)00110-3.
 59. Yousufuddin M., Young N. Aging and ischemic stroke. *Aging* 2019; 11(9): 2542–2544. doi: 10.18632/aging.101931.
 60. Yamaguchi S., Horie N., Satoh K., et al. Age of donor of human mesenchymal stem cells affects structural and functional recovery after cell therapy following ischaemic stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 2018; 38(7): 1199–1212. doi: 10.1177/0271678X17731964.
 61. Hess D.C., Wechsler L.R., Clark W.M., et al. Safety and efficacy of multipotent adult progenitor cells in acute ischaemic stroke (MASTERS): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet Neurology* 2017; 16(5): 360–368. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30046-7.
 62. Boozer S., Lehman N., Lakshmiathy U., et al. Global characterization and genomic stability of human multistem, a multipotent adult progenitor cell. *Stem Cell Research Advancements* 2011; 4(1): 119–134. doi: jsc.2009.4.1.17.
 63. Levy M.L., Crawford J.R., Dib N., et al. Phase I/II study of safety and preliminary efficacy of intravenous allogeneic mesenchymal stem cells in chronic stroke. *Stroke* 2019; 50(10): 2835–2841. doi: 10.1161/STROKEAHA.119.026318.
 64. Steinberg G.K., Kondziolka D., Wechsler L.R., et al. Clinical Outcomes of Transplanted Modified Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Stroke: A Phase 1/2a Study. *Stroke* 2016; 47(7): 1817–1824. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.012995.
 65. Dao M.A., Tate C.C., Aizman I., et al. Comparing the immunosuppressive potency of naïve marrow stromal cells and Notch-transfected marrow stromal cells. *Journal of Neuroinflammation* 2011; 8(1): 133. doi: 10.1186/1742-2094-8-133.
 66. Dao M., Tate C.C., McGrogan M., et al. Comparing the angiogenic potency of naïve marrow

- stromal cells and Notch-transfected marrow stromal cells. *Journal of Translational Medicine* 2013; 11(1): 81. doi: 10.1186/1479-5876-11-81.
67. Tate C.C., Fonck C., McGrogan M., et al. Human mesenchymal stromal cells and their derivative, SB623 cells, rescue neural cells via trophic support following in vitro ischemia. *Cell Transplantation* 2010; 19(8): 973–984. doi: 10.3727/096368910X494885.
 68. Aizman I., Tate C.C., McGrogan M., et al. Extracellular matrix produced by bone marrow stromal cells and by their derivative, SB623 cells, supports neural cell growth. *Journal of Neuroscience Research* 2009; 87(14): 3198–3206. doi: 10.1002/jnr.22146.
 69. Yasuhara T., Matsukawa N., Hara K., et al. Notch-Induced Rat and Human Bone Marrow Stromal Cell Grafts Reduce Ischemic Cell Loss and Ameliorate Behavioral Deficits in Chronic Stroke Animals. *Stem Cells and Development* 2009; 18(10): 1501–1514. doi: 10.1089/scd.2009.0011.
 70. Steinberg G.K., Kondziolka D., Wechsler L.R., et al. Two-year safety and clinical outcomes in chronic ischemic stroke patients after implantation of modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells (SB623): a phase 1/2a study. *Journal of Neurosurgery* 2019; 131(5): 1462–1472. doi: 10.3171/2018.5.JNS173147.
 71. Namestnikova D.D., Cherkashova E.A., Sukhinich K.K., et al. Combined cell therapy in the treatment of neurological disorders. *Biomedicines* 2020; 8(12): 1–16. doi: 10.3390/biomedicines8120613.
 72. Hosseini S.M., Farahmandnia M., Razi Z., et al. Combination cell therapy with mesenchymal stem cells and neural stem cells for brain stroke in rats. *International Journal of Stem Cells* 2015; 8(1): 99–105. doi: 10.15283/ijsc.2015.8.1.99.
 73. Sun K., Zhou Z., Ju X., et al. Combined transplantation of mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells for tissue engineering: a systematic review and meta-analysis. *Stem Cell Research and Therapy* 2016; 7(1): 1–13. doi: 10.1186/s13287-016-0390-4.
 74. Qiao L.-Y., Huang F.-J., Zhao M., et al. A Two-Year Follow-Up Study of Cotransplantation with Neural Stem/Progenitor Cells and Mesenchymal Stromal Cells in Ischemic Stroke Patients. *Cell Transplantation* 2014; 23(1_suppl): 65–72. doi: 10.3727/096368914x684961.
 75. Zhang Y., Dong N., Hong H., et al. Mesenchymal Stem Cells: Therapeutic Mechanisms for Stroke. *International Journal of Molecular Sciences* 2022; 23(5) doi: 10.3390/ijms23052550.
 76. Ullah M., Liu D.D., Thakor A.S. Mesenchymal Stromal Cell Homing: Mechanisms and Strategies for Improvement. *iScience* 2019; 15: 421–438. doi: 10.1016/j.isci.2019.05.004.
 77. Harrell C., Fellabaum C., Jovicic N., et al. Molecular Mechanisms Responsible for Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome. *Cells* 2019; 8(5): 467. doi: 10.3390/cells8050467.
 78. Dörnen J., Dittmar T. The Role of MSCs and Cell Fusion in Tissue Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22(20): 10980. doi: 10.3390/ijms222010980.
 79. Babenko V.A., Silachev D.N., Popkov V.A., et al. Miro1 enhances mitochondria transfer from multipotent mesenchymal stem cells (MMSC) to neural cells and improves the efficacy of cell recovery. *Molecules* 2018; 23(3)(687): 1–14. doi: 10.3390/molecules23030687.
 80. Chen J., Li Y., Katakowski M., et al. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *Journal of Neuroscience Research* 2003; 73(6): 778–786. doi: 10.1002/jnr.10691.
 81. Esneault E., Pacary E., Eddi D., et al. Combined therapeutic strategy using erythropoietin and mesenchymal stem cells potentiates neurogenesis after transient focal cerebral ischemia in rats. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2008; 28(9): 1552–1563. doi: 10.1038/jcbfm.2008.40.
 82. Maltman D.J., Hardy S.A., Przyborski S.A. Role of mesenchymal stem cells in neurogenesis and nervous system repair. *Neurochemistry International* 2011; 59(3): 347–356. doi: 10.1016/j.neuint.2011.06.008.
 83. Caplan A.I., Dennis J.E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of Cellular*

- Biochemistry 2006; 98(5): 1076–1084. doi: 10.1002/jcb.20886.
84. Lee R.H., Pulin A.A., Seo M.J., et al. Intravenous hMSCs Improve Myocardial Infarction in Mice because Cells Embolized in Lung Are Activated to Secrete the Anti-inflammatory Protein TSG-6. *Cell Stem Cell* 2009; 5(1): 54–63. doi: 10.1016/j.stem.2009.05.003.
 85. Kubo H., Shimizu M., Taya Y., et al. Identification of mesenchymal stem cell (MSC)-transcription factors by microarray and knockdown analyses, and signature molecule-marked MSC in bone marrow by immunohistochemistry. *Genes to Cells* 2009; 14(3): 407–424. doi: 10.1111/j.1365-2443.2009.01281.x.
 86. Wilkins A., Kemp K., Ginty M., et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells secrete brain-derived neurotrophic factor which promotes neuronal survival in vitro. *Stem Cell Research* 2009; 3(1): 63–70. doi: 10.1016/j.scr.2009.02.006.
 87. Wakabayashi K., Nagai A., Sheikh A.M., et al. Transplantation of human mesenchymal stem cells promotes functional improvement and increased expression of neurotrophic factors in a rat focal cerebral ischemia model. *Journal of Neuroscience Research* 2009; 88(5): NA-NA. doi: 10.1002/jnr.22279.
 88. Sterner R.C., Sterner R.M. Immune response following traumatic spinal cord injury: Pathophysiology and therapies. *Frontiers in immunology* 2022; 13: 1084101. doi: 10.3389/fimmu.2022.1084101.
 89. Pricola K.L., Kuhn N.Z., Haleem-Smith H., et al. Interleukin-6 maintains bone marrow-derived mesenchymal stem cell stemness by an ERK1/2-dependent mechanism. *Journal of Cellular Biochemistry* 2009; 108(3): 577–588. doi: 10.1002/jcb.22289.
 90. Leibinger M., Müller A., Gobrecht P., et al. Interleukin-6 contributes to CNS axon regeneration upon inflammatory stimulation. *Cell Death & Disease* 2013; 4(4): e609–e609. doi: 10.1038/cddis.2013.126.
 91. Gene Ontology Resource [Electronic resource]URL: <https://geneontology.org/> (accessed: 12.11.2023).
 92. Chen T.S., Lai R.C., Lee M.M., et al. Mesenchymal stem cell secretes microparticles enriched in pre-microRNAs. *Nucleic Acids Research* 2009; 38(1): 215–224. doi: 10.1093/nar/gkp857.
 93. Alonso-Alonso M.L., García-Posadas L., Diebold Y. Extracellular Vesicles from Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells: A Review of Common Cargos. *Stem Cell Reviews and Reports* 2022; 18(3): 854–901. doi: 10.1007/s12015-021-10155-5.
 94. Ferguson S.W., Wang J., Lee C.J., et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view. *Scientific Reports* 2018; 8(1): 1419. doi: 10.1038/s41598-018-19581-x.
 95. Kong X., Gao J. Macrophage polarization: a key event in the secondary phase of acute spinal cord injury. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2017; 21(5): 941–954. doi: 10.1111/jcmm.13034.
 96. An N., Yang J., Wang H., et al. Mechanism of mesenchymal stem cells in spinal cord injury repair through macrophage polarization. *Cell & Bioscience* 2021; 11(1): 41. doi: 10.1186/s13578-021-00554-z.
 97. Shao M., Jin M., Xu S., et al. Exosomes from Long Noncoding RNA-Gm37494-ADSCs Repair Spinal Cord Injury via Shifting Microglial M1/M2 Polarization. *Inflammation* 2020; 43(4): 1536–1547. doi: 10.1007/s10753-020-01230-z.
 98. Chen Q.-H., Wu F., Liu L., et al. Mesenchymal stem cells regulate the Th17/Treg cell balance partly through hepatocyte growth factor in vitro. *Stem Cell Research & Therapy* 2020; 11(1): 91. doi: 10.1186/s13287-020-01612-y.
 99. Liu J., Liu Q., Chen X. The Immunomodulatory Effects of Mesenchymal Stem Cells on Regulatory B Cells. *Frontiers in Immunology* 2020; 11: 1843. doi: 10.3389/fimmu.2020.01843.
 100. Zeng X., Ma Y., Chen Y., et al. Autocrine fibronectin from differentiating mesenchymal stem cells induces the neurite elongation in vitro and promotes nerve fiber regeneration in

- transected spinal cord injury. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2016; 104(8): 1902–1911. doi: 10.1002/jbm.a.35720.
101. Nazari-Shafti T.Z., Neuber S., Garcia Duran A., et al. Human mesenchymal stromal cells and derived extracellular vesicles: Translational strategies to increase their proangiogenic potential for the treatment of cardiovascular disease. *Stem Cells Translational Medicine* 2020; 9(12): 1558–1569. doi: 10.1002/sctm.19-0432.
 102. Gong M., Yu B., Wang J., et al. Mesenchymal stem cells release exosomes that transfer miRNAs to endothelial cells and promote angiogenesis. *Oncotarget* 2017; 8(28): 45200–45212. doi: 10.18632/oncotarget.16778.
 103. Colliander R., Alleman K., Diaz M., et al. Stem Cell Implants: Emerging Innovation for Stroke Recovery. *Journal of neuro and oncology research* 2023; 3(1).
 104. Buga A.M., Di Napoli M., Popa-Wagner A. Preclinical models of stroke in aged animals with or without comorbidities: Role of neuroinflammation. *Biogerontology* 2013; 14(6): 651–662. doi: 10.1007/s10522-013-9465-0.
 105. Sommer C.J. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathologica* 2017; 133(2): 245–261. doi: 10.1007/s00401-017-1667-0.
 106. Ahlfors J.E., Azimi A., El-Ayoubi R., et al. Examining the fundamental biology of a novel population of directly reprogrammed human neural precursor cells. *Stem Cell Research and Therapy* 2019; 10(1) doi: 10.1186/s13287-019-1255-4.
 107. Popp A., Jaenisch N., Witte O.W., et al. Identification of ischemic regions in a rat model of stroke. *PLoS ONE* / ed. Kleinschnitz C. 2009; 4(3): e4764. doi: 10.1371/journal.pone.0004764.
 108. Weber R.Z., Bernardoni D., Rentsch N.H., et al. Visualization and estimation of stroke infarct volumes in rodents. *bioRxiv* 2023; : 2023.07.14.547245. doi: 10.1101/2023.07.14.547245.
 109. Saunders D.E., Clifton A.G., Brown M.M. Measurement of infarct size using mri predicts prognosis in middle cerebral artery infarction. *Stroke* 1995; 26(12): 2272–2276. doi: 10.1161/01.STR.26.12.2272.
 110. González R.G. Clinical MRI of acute ischemic stroke. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 2012; 36(2): 259–271. doi: 10.1002/jmri.23595.
 111. Milidonis X., Marshall I., Macleod M.R., et al. Magnetic resonance imaging in experimental stroke and comparison with histology: Systematic review and meta-analysis. *Stroke* 2015; 46(3): 843–851. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.007560.
 112. Qiao J., Cai X., Xiao Q., et al. Data on MRI brain lesion segmentation using K-means and Gaussian Mixture Model-Expectation Maximization. *Data in Brief* 2019; 27: 104628. doi: 10.1016/j.dib.2019.104628.
 113. Valverde J.M., Shatillo A., De Feo R., et al. Automatic Cerebral Hemisphere Segmentation in Rat MRI with Ischemic Lesions via Attention-based Convolutional Neural Networks. *Neuroinformatics* 2023; 21(1): 57–70. doi: 10.1007/s12021-022-09607-1.
 114. Kevin Zhou S., Fichtinger G., Rueckert D. Handbook of medical image computing and computer assisted intervention. *Handbook of Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention* 2019; 1–1043 p. doi: 10.1016/C2017-0-04608-6.
 115. Lee J., Chang W.H., Chung J.W., et al. Efficacy of Intravenous Mesenchymal Stem Cells for Motor Recovery after Ischemic Stroke: A Neuroimaging Study. *Stroke* 2022; 53(1) doi: 10.1161/STROKEAHA.121.034505.
 116. Jaillard A., Hommel M., Moisan A., et al. Autologous Mesenchymal Stem Cells Improve Motor Recovery in Subacute Ischemic Stroke: a Randomized Clinical Trial. *Translational Stroke Research* 2020; 11(5): 910–923. doi: 10.1007/s12975-020-00787-z.
 117. De Celis-Ruiz E., Fuentes B., Moniche F., et al. Allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in ischaemic stroke (AMASCIS-02): A phase IIb, multicentre, double-blind, placebo-controlled clinical trial protocol. *BMJ Open* 2021; 11(8): e051790. doi: 10.1136/bmjopen-2021-051790.

118. Bang O.Y., Kim E.H., Cho Y.H., et al. Circulating Extracellular Vesicles in Stroke Patients Treated with Mesenchymal Stem Cells: A Biomarker Analysis of a Randomized Trial. *Stroke* 2022; 53(7): 2276–2286. doi: 10.1161/STROKEAHA.121.036545.

IN PRESS