

## Обзорная статья = Review article = Оглядова стаття

Ukr Neurosurg J. 2020;26(4):5-19  
doi: 10.25305/unj.209118

### Клеточная терапия при ишемическом инсульте

Ботев В.С., Гриб В.А.

Кафедра неврологии и  
нейрохирургии, Ивано-  
Франковский национальный  
медицинский университет, Ивано-  
Франковск, Украина

Поступила в редакцию 31.07.2020  
Принята к публикации 02.11.2020

#### Адрес для переписки:

Ботев Вячеслав Семенович,  
Кафедра неврологии и  
нейрохирургии, Ивано-  
Франковский национальный  
медицинский университет, ул.  
Галицкая, 2, Ивано-Франковск,  
76018, Украина, e-mail:  
vyacheslav56@yahoo.co.uk

Инсульт – вторая, а в некоторых странах – третья причина смертности населения и одна из причин инвалидизации взрослого населения. Согласно статистике, в 2018 г. диагностировано 15 млн случаев инсульта и 6 млн летальных исходов. Единственными одобренными в настоящее время методами лечения острого инсульта являются внутривенное введение рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rtPA) и внутриартериальная тромбэктомия, которые используют менее чем у 10 и 1% пациентов соответственно.

Обзор литературы посвящен патофизиологии и молекулярным механизмам повреждения при ишемии головного мозга. Обсуждается современная концепция двух стратегий клеточной терапии – нейропротекции и ремоделирования, а также значение стволовых клеток в уменьшении местного и системного воспаления, нейрогенезе и ангиогенезе, повышении нейронной пластичности и защите гематоэнцефалического барьера. Показана роль паракринных факторов и внеклеточных везикул.

Описаны методы доставки стволовых клеток (прямая интрацеребральная трансплантация, внутрижелудочковая и эндолюмбальная, внутривенная и внутриартериальная), количество клеток, их тип и оптимальное время доставки в зависимости от периода инсульта (острого, подострого и хронического). Представлены четыре вида канюль для трансплантации и их спецификация. Приведены данные о 15 завершенных клинических исследованиях с 2015 г. по настоящее время, в которых приняли участие 513 пациентов. Проведен подробный анализ эффективности и безопасности клеточной терапии.

**Ключевые слова:** ишемический каскад; клеточная терапия; стволовые клетки; трансплантация

### Cell therapy for ischemic stroke

Viacheslav S. Botev, Viktoria A. Gryb

Department of Neurology and  
Neurosurgery, Ivano-Frankivsk  
National Medical University, Ivano-  
Frankivsk, Ukraine

Received: 31 July 2020  
Accepted: 02 November 2020

#### Address for correspondence:

Viacheslav S. Botev, Department  
of Neurology and Neurosurgery,  
Ivano-Frankivsk National Medical  
University, 2 Halytska st., Ivano-  
Frankivsk, 76018, Ukraine, e-mail:  
vyacheslav56@yahoo.co.uk

Stroke is the second, and in some countries the third cause of mortality in the population and one of the causes of disability in the adult population. According to statistics, in 2018, 15 million cases of stroke and 6 million deaths were diagnosed,

The only currently approved treatments for acute stroke are intravenous tissue plasminogen activator (rtPA) and intra-arterial thrombectomy, which are used in less than 10% and 1% of patients, respectively.

The literature review is devoted to the pathophysiology and molecular mechanisms of damage in cerebral ischemia. The modern concept of two strategies of cell therapy is discussed: neuroprotection and remodeling; the role of stem cells in reducing local and systemic inflammation, neurogenesis and angiogenesis, increasing neuronal plasticity, and protecting the blood-brain barrier, the role of paracrine factors and extracellular vesicles is shown.

Methods of stem cell delivery are described: direct intracerebral transplantation, intraventricular and intrathecal, intravenous and intraarterial; the number of cells, their type and optimal delivery time depending on the acute, subacute and chronic periods of stroke. We also described recently designed the radially branched deployment (RBD) device and Cleveland multiport catheter for convection-enhanced delivery in which a cell-delivery catheter can be deployed at various angles and depths from a single longitudinal cannula. Finally, data on the completed 15 clinical trials from 2015 to the present, in which 513 patients took part, are presented. A detailed analysis of the efficacy and safety of cell therapy has been carried out.

**Keywords:** ischemic cascade; cell therapy; stem cells; stem cells delivery; clinical trials.



## Клітинна терапія при ішемічному інсульті

Ботєв В.С., Гриб В.А.

Кафедра неврології і нейрохірургії,  
Івано-Франківський національний  
медичний університет, Івано-  
Франківськ, Україна

Надійшла до редакції 31.07.2020  
Прийнята до публікації 02.11.2020

### Адреса для листування:

Ботєв Вячеслав Семенович,  
Кафедра неврології і нейрохірургії,  
Івано-Франківський національний  
медичний університет, вул.  
Галицька, 2, Івано-Франківськ,  
76018, Україна, e-mail:  
vyacheslav56@yahoo.co.uk

Інсульт – друга, а в деяких країнах – третя причина смертності населення та одна з причин інвалідизації дорослого населення. Згідно зі статистикою, в 2018 р. діагностовано 15 млн випадків інсульту і 6 млн летальних наслідків. Єдиними схваленими нині методами лікування гострого інсульту є внутрішньовенне введення рекомбінантного тканинного активатора плазміногену (rtPA) і внутрішньоартеріальна тромбектомія, які використовують менше ніж у 10 та 1% пацієнтів відповідно.

Огляд літератури присвячений патофізіології та молекулярним механізмам ушкодження при ішемії головного мозку. Обговорюється сучасна концепція двох стратегій клітинної терапії – нейропротекції та ремоделювання, а також значення стовбурових клітин у зменшенні місцевого і системного запалення, нейрогенезі та ангиогенезі, підвищенні нейронної пластичності, захисті гематоенцефалічного бар'єра. Показана роль паракрінних факторів і позаклітинних везикул.

Описано методи доставки стовбурових клітин (пряма інтрацеребральна трансплантація, внутрішньошлуночкова і ендолюмбальна, внутрішньовенна та внутрішньоартеріальна), кількість клітин, їх тип і оптимальний час доставки залежно від періоду інсульту (гострого, підгострого і хронічного). Представлено чотири види канюль для трансплантації та їх специфікацію. Наведено дані щодо 15 завершених клінічних досліджень з 2015 р. дотепер, в яких взяли участь 513 пацієнтів. Проведено детальний аналіз ефективності та безпечності клітинної терапії.

**Ключові слова:** ішемічний каскад; клітинна терапія; стовбурові клітини; трансплантація

### Ежегодно 29 октября во всем мире отмечается Всемирный день борьбы с инсультом (World Stroke Day).

Острый ишемический инсульт – одна из наиболее частых причин смерти и инвалидности в мире. Каждый год 15 млн лиц страдают от инсульта, 6 млн умирают от него, а 5 млн остаются с постоянной инвалидностью [1]. Частота инсультов удваивается каждые 10 лет как у мужчин, так и у женщин старше 55 лет, причем более 80% инсультов приходится на лиц в возрасте старше 65 лет [2]. Инсульт поражает в три раза больше женщин, чем рак молочной железы. По данным G.A. Roth и соавт. из Вашингтонского университета (University of Washington, Сиэтл, США), почти каждый четвертый человек в мире подвержен риску развития инсульта [3].

В Украине ежегодно 100–110 тыс. чел. впервые переносят инсульт, 40–43 тыс. чел. умирают [4], то

есть в среднем каждые 15 мин кто-то умирает от инсульта.

Достижения в области магнитно-резонансной морфометрии головного мозга и нейрональной стереологии позволили количественно оценить потери элементов ткани мозга при супратенториальном ишемическом инсульте в единицу времени (**Табл. 1**) [5, 6].

В человеческом мозге примерно 100 млрд нейронов. Без соответствующей терапии при ишемическом инсульте за 1 мин в среднем погибают 1,9 млн нейронов. Через 10 ч пациенты, перенесшие инсульт, могут потерять столько же нейронов, сколько они потеряли бы за 36 лет нормального старения (так называемое ускоренное старение).

**Таблица 1.** Темп гибели нейронов и миелинизированных волокон при супратенториальном ишемическом инсульте (по J.L. Saver, 2006 [5])

Время от начала ишемического инсульта	Количество погибших нейронов	Протяженность утраченных миелинизированных волокон	Ускоренное старение
10 ч	1,2 млрд	7140 км	36 лет
1 ч	120 млн	714 км	3,6 года
1 мин	1,9 млн	12 км	3,1 нед
1 с	32 тыс.	200 м	8,7 ч

Длительность периода от начала до завершения ишемического инсульта в среднем составляет 10 ч. Конечный объем инфаркта в среднем составляет 54 см<sup>3</sup>

Статья содержит рисунки, которые отображаются в печатной версии в оттенках серого, в электронной – в цвете.

**Патофизиология ишемической травмы**

Согласно "теории опасности" ("Danger Theory"), предложенной P. Matzinger, гибнущие в условиях церебральной ишемии нейроны и другие клетки высвобождают сигналы "опасности", которые получили название "ассоциированные с опасностью молекулярные паттерны" (Damage-associated molecular patterns (DAMPs)), или аларминов [7]. Сигналы опасности включают различные белки (HMGB1 – High Mobility Group Box 1, белки теплового шока, S100B), аденозинтрифосфат (АТФ), ДНК, РНК, сульфат гепарина, окисленные липопротеиды низкой плотности, β-амилоид, гиалуронан и некоторые другие молекулы. Эти алармины взаимодействуют с теми рецепторами на иммунных клетках, которые распознают структуры патогенов, и активируют клетки врожденного иммунитета к продукции провоспалительных цитокинов, в частности интерлейкина-1β (ИЛ-1β), фактора некроза опухоли-α (ФНО-α), свободных радикалов кислорода и матриксных металлопротеиназ (ММР), запуская воспалительный каскад [8, 9].

Молекулярные механизмы повреждения при ишемии головного мозга показаны на **Рис. 1**.

Огромные усилия были направлены на разработку нейропротекторных агентов, в том числе поглотителей свободных радикалов и антагонистов глутамата. Однако в клинических испытаниях все они потерпели неудачу. Причины этих неудач многогранны и отчасти могут объясняться неадекватными и зачастую нереалистичными протоколами лечения, связанными с дозировкой и временем введения.

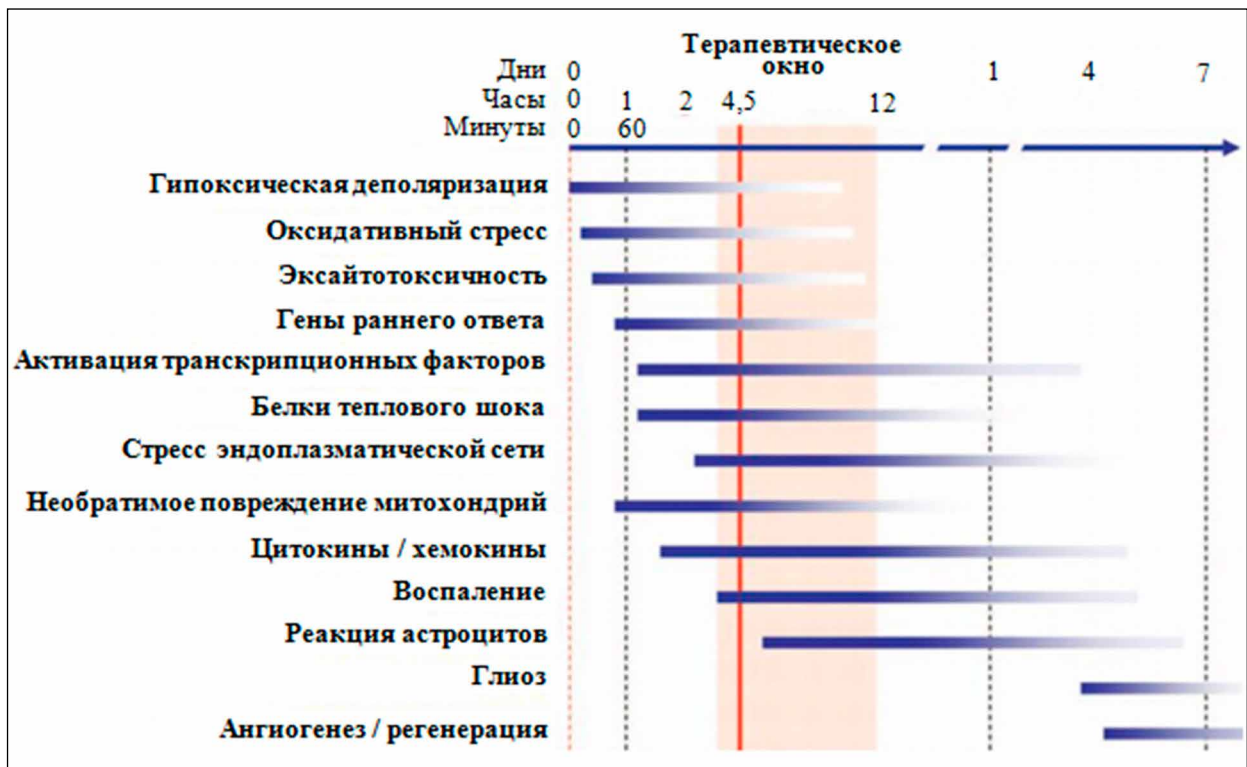
Современное лечение инсульта включает реперфузионную терапию (введение рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rtPA)) и механическую тромбэктомия. Активатор тканевого плазминогена (rtPA) представляет собой единственный одобренный FDA препарат для лечения инсульта, но для эффективности его следует вводить внутривенно в течение 4,5 ч. Примечательно, что недавнее клиническое исследование "ночных инсультов" (wake-up stroke) показало, что это терапевтическое окно может быть безопасно продлено до 9 ч от начала инсульта [11]. Кроме того, rtPA обладает серьезным неблагоприятным побочным эффектом – увеличивает скорость геморрагической трансформации.

**Механизмы клеточной терапии при ишемическом инсульте**

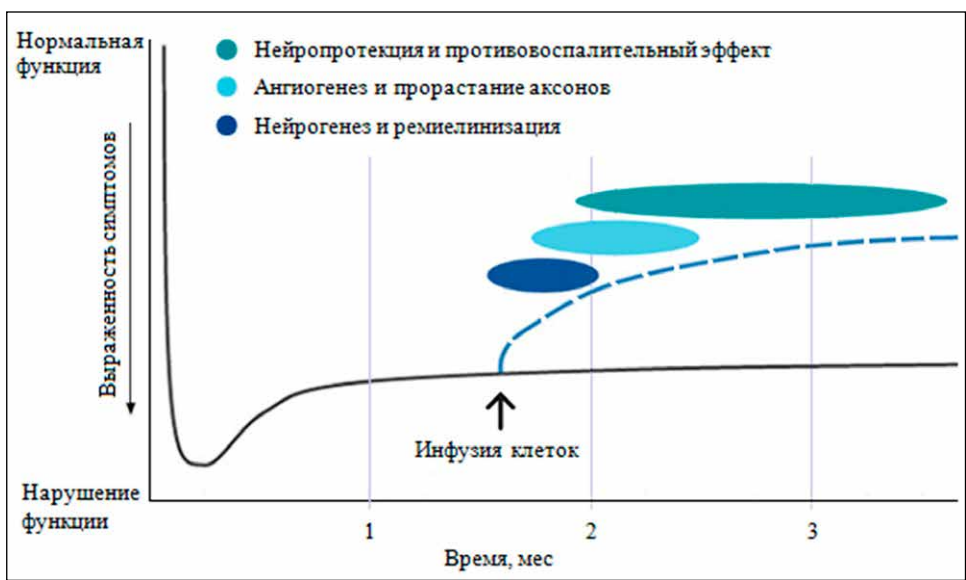
Доклинические исследования продемонстрировали большое количество механизмов клеточной терапии при ишемическом инсульте. Н.И. Лисяный (2020) постулирует, что принцип замещения, наиболее вероятно, играет менее значимую роль, чем предполагали ранее [12].

Потенциальные терапевтические механизмы после внутривенного введения стволовых клеток (СК) при инсульте показаны на **Рис. 2**.

Черная линия указывает на идеализированную кривую спонтанного восстановления после ишемического инсульта с первоначальным тяжелым дефицитом. Медленное эндогенное восстановление впоследствии переходит в плато. Пунктирная линия указывает на постепенное восстановление неврологической функции после инфузии СК (стрелка).



**Рис. 1.** Временная последовательность развития молекулярных механизмов повреждения при ишемии головного мозга (по J.C. Chavez et al. [10])



**Рис. 2.** Схематическое представление потенциальных терапевтических механизмов после внутривенного введения стволовых клеток при инсульте (по Kiyohiro Houkin et al. [13])

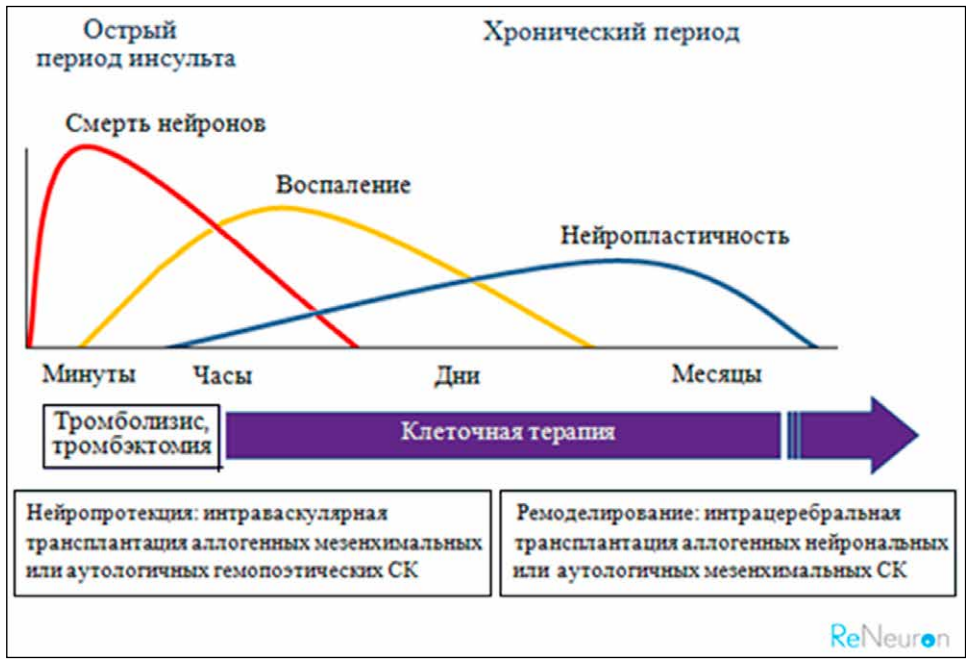
**Уменьшение местного и системного воспаления**

Стволовые клетки оказывают иммуномодулирующее влияние как в ишемической ткани, так и системно. Они индуцируют активацию генов, экспрессирующих противовоспалительные цитокины, и подавляют влияние генов провоспалительных молекул, что приводит к снижению количества периферических лейкоцитов в ишемическом мозге. Стволовые клетки продемонстрировали снижение пролиферации активированной микроглии в периинфарктной области. Они взаимодействуют с периферическими лимфоидными органами, в частности, с селезенкой, и изменяют системное воспаление за счет снижения

продукции CD8+T-клеток, увеличивая выработку противовоспалительного цитокина ИЛ-10 [14–17].

**Нейрогенез и ангиогенез**

Полученные из костного мозга клетки секретируют различные факторы роста, включая сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF), нейротрофический фактор глиальных клеток (GDNF), фактор роста нервов (NGF) и нейротрофический фактор мозга (BDNF). Стволовые клетки также стимулируют высвобождение нейротрофинов из паренхимных клеток хозяина [18, 19], что приводит к усилению нейрогенеза, ангиогенеза и дифференцировки нейронов (**Рис. 3**).



**Рис. 3.** Две стратегии клеточной терапии – нейропротекция и ремоделирование (по ReNeuron с изменениями)

### **Усиление эндогенного нейрогенеза**

Трансплантация СК приводит к увеличению пролиферации клеток в субвентрикулярной зоне и субгранулярном слое гиппокампа с миграцией этих эндогенных клеток-предшественников в перинфарктную область и дифференцировке в зрелые нейроны [20, 21].

### **Повышение нейронной пластичности**

СК стимулируют прорастание аксонов, ветвление дендритов и синаптогенез. Наблюдают повышенную пролиферацию клеток-предшественников олигодендроцитов с усиленной ремиелинизацией в перинфарктной зоне [22].

### **Защита гематоэнцефалического барьера**

Было продемонстрировано, что СК сохраняют функцию аквапорина-4 (aquaporin-4) после ишемического инсульта, тем самым подавляя апоптоз астроцитов и поддерживая целостность гематоэнцефалического барьера [23].

### **Секреция паракринных факторов (эффект наблюдателя, bystander effect)**

Секреция паракринных факторов является важным аспектом функциональной мультипотентности стволовых клеток. Эти клетки секретуют трофические факторы, такие как цитокины, хемокины и экзосомы, которые уменьшают повреждение нейронов или генерируют новые нейронные цепи. Помимо усиления противовоспалительного и иммуномодулирующего действия, эти факторы вызывают антиапоптотические эффекты и мобилизуют эндогенные стволовые клетки/нейральные клетки-предшественники [24–26].

Эти факторы высвобождаются в окружающую среду через прямое проникновение или внеклеточные везикулы и непосредственно уменьшают ишемическое повреждение и подавляют местное, а также системное воспаление через периферические иммунные органы, такие как селезенка и тимус (вилочковая железа). Внеклеточные везикулы представляют собой мембранные структуры из липидных двухслойных наночастиц, которые транспортируют белки, липиды и нуклеиновые кислоты посредством эндоцитоза.

### **Типы внеклеточных везикул**

Внеклеточные везикулы можно разделить на три основных типа в зависимости от размера и внутриклеточного происхождения: экзосомы, микровезикулы и апоптотические тельца. Внеклеточные везикулы привлекают внимание из-за низкой иммуногенности и высокой проницаемости гематоэнцефалического барьера, что уменьшает повреждение и облегчает выздоровление. Эти свойства наряду с универсальностью делают внеклеточные везикулы перспективными в качестве средств доставки лекарств. Согласно недавним сообщениям, внеклеточные везикулы могут уменьшать ишемическое повреждение с помощью большого количества механизмов, включая активацию ангиогенеза, нейрогенеза и модуляцию аутофагии после ишемического инсульта. Эти факторы не только спасают поврежденные клетки мозга, но и ускоряют регенерацию собственных стволовых клеток. Трофические факторы способствуют пролиферации клеток-предшественников нейронов хозяина, особенно тех,

которые расположены вокруг субвентрикулярной зоны (SVZ) и обычно неактивны [27–29].

### **Методы доставки стволовых клеток**

#### **Прямая интрацеребральная трансплантация**

Интрацеребральное стереотаксическое введение позволяет доставить клетки непосредственно в область ишемии. При таком типе введения можно доставить СК максимально адресно. Однако стоит учитывать, что в ишемическом очаге создается неблагоприятное микроокружение, в том числе для трансплантированных клеток. Чем ближе к этому очагу находятся трансплантированные клетки, тем меньшее их количество выживает после введения. К недостаткам внутримозговой трансплантации стоит отнести ее высокую инвазивность, дополнительную травматизацию мозга и связанные с этим побочные эффекты после нейрохирургической манипуляции. Последнее может сильно ограничить возможность применения этого метода в острый период инсульта.

В 4 последних завершившихся исследованиях выполнено стереотаксическое внутримозговое введение иммортализованных нейральных стволовых клеток (НСК) в область базальных ядер ипсилатерального полушария [30], модифицированных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [31], нейральных СК NSI-566 [32] и аллогенных МСК из пуповинной крови [33] по периферии очага инфаркта мозга. Клеточную суспензию вводили в концентрации  $10^6$ – $10^8$ /20 мкл (на одну инъекцию).

#### **Внутрижелудочковая и эндолюмбальная трансплантация**

Внутрижелудочковое и эндолюмбальное введение являются менее инвазивными, но при инфузии в ликворные пространства возможна адгезия клеток к эпендимной выстилке желудочков мозга с развитием окклюзионной гидроцефалии. Сообщалось об улучшении функциональных показателей в нескольких доклинических исследованиях. При интракраниальном введении использовали аутологичные мононуклеарные клетки костного мозга в концентрации  $1 \cdot 10^7$  в объеме около 2 мл [34].

#### **Внутривенная трансплантация**

Внутривенное введение является более безопасным и общедоступным, но большая часть клеток задерживается в паренхиматозных органах (легких, печени, селезенке и даже почках), что уменьшает доставку СК в мозг и функциональное восстановление по сравнению с внутриартериальным введением. Фактически, в ишемический мозг проникает довольно мало клеток (приблизительно 0,4–4,0%) или они вовсе не обнаруживаются. Количество СК для внутривенного введения в среднем составляет  $10^7$ – $10^8$ , разведенных в 250 мл физиологического раствора (или 0,50–3,34 млн СК/кг массы тела). Введение в вену осуществляют через периферический катетер со средней скоростью 2 мл/мин [35–41].

#### **Внутриартериальная трансплантация**

Внутриартериальная трансплантация СК продемонстрировала наилучшую терапевтическую эффективность, обеспечивая адресную доставку СК в мозговые сосуды, минуя периферические органы. Однако ряд авторов сообщили о риске развития

эмболических инсультов при таком способе введения СК. Другие исследователи считают, что эмболических осложнений можно избежать при подборе оптимального количества, скорости и условий введения СК. Эти параметры подбирают экспериментально, индивидуально для каждого типа клеток и массы тела реципиента. Многочисленные исследования показали улучшение функциональных результатов на животных моделях ишемического инсульта и устойчивый эффект до одного года. Клетки вводили в проксимальный сегмент (M1) средней мозговой артерии в количестве  $10^6$ – $10^8$  в меньшем объеме (10–15 мл) и с более низкой скоростью (в среднем 0,5–1,0 мл/мин) [42–44]. H. Liu и соавт. [45] в опытах на животных установили, что при внутриартериальном введении 21% клеток проникли в мозг, а при внутривенном – лишь 4%. R. Guzman сообщил, что после внутриартериального введения 1300 клеток/мм<sup>2</sup> заполняют область инфаркта по сравнению с 74 клетками/мм<sup>2</sup> после внутривенного введения СК [46].

#### Количество клеток для трансплантации

G.K. Steinberg и соавт. (2016) разделили пациентов на три группы по 6 пациентов в зависимости от количества вводимых интрацеребрально клеток SB623:  $2,5 \cdot 10^6$ ,  $5,0 \cdot 10^6$  и  $10 \cdot 10^6$  клеток в суспензии, в концентрации от 8 000 до 33 000 клеток/мкл. В метаанализе экспериментальных исследований количество СК варьировало от  $3,6 \cdot 10^4$  до  $4,3 \cdot 10^7$ /кг массы тела [31].

#### Оптимальное время доставки стволовых клеток

Основной механизм терапевтического эффекта клеточной терапии может отличаться в зависимости от срока введения, то есть более ранняя терапия может служить для предотвращения первичного и вторичного повреждения, связанного с острой ишемией (нейропротекция), тогда как поздняя

терапия во время подострой или хронической фазы инсульта может способствовать репаративной регенерации.

Нет четко определенных терапевтических временных интервалов для клеточной терапии со всеми путями трансплантации клеток. Существует довольно много исследований, посвященных эффективности лечения в разные моменты времени. Вероятно, оптимальные сроки трансплантации зависят от ее способа. Имеется сообщение о том, что внутривенная трансплантация была эффективной в дни 0–1, но не в хронической стадии (день 28), тогда как внутриартериальная трансплантация продемонстрировала пиковую эффективность примерно в дни 1–7. Интрацеребральная трансплантация показала функциональное восстановление вплоть до 42-го дня [47, 48].

Во время воспалительной фазы трансплантация аллогенных мезенхимальных СК модулирует воспалительный ответ. В фазе пролиферации трансплантация гемопоэтических СК активирует ангиогенез и эндогенный нейрогенез. На этапе ремоделирования трансплантированные СК дифференцируются в нейрональные клетки и экспрессируют нейротропные факторы (Рис. 4).

#### Выживание трансплантированных клеток

P.H. Rosado-de-Castro и соавт. трансплантировали меченные технецием-99m аутологичные мононуклеарные клетки костного мозга внутривенно и внутриартериально пациентам с подострым инсультом и обнаружили, что только 0,6–0,9% клеток присутствовали в головном мозге через 24 ч после трансплантации [49]. Они сообщили, что в группе внутриартериальной трансплантации было более высокое содержание радиоактивных клеток в печени (47%) и селезенке (7%), а также низкий уровень в легких (4%) по сравнению с внутривенной трансплантацией (печень – 19%, селезенка – 3%, легкие – 7%).



Рис. 4. Основные виды клеточной терапии во время ишемического каскада (по Kiyohiro Houkin et al. [13])

### Степень дифференциации нейральных стволовых клеток, трансплантированных интрацеребрально, в нейроны

Степень дифференциации нейральных СК в нейроны варьирует в зависимости от типа клеток и составляет 34–46% для фетальных, 30% – для эмбриональных и 40–66% – для индуцированных плюрипотентных.

Свидетельства интеграции трансплантированных нейральных СК включают экспрессию синаптических белков, идентификацию образования синапсов с соседними нейронами хозяина при электронной микроскопии и обнаружение потенциал-зависимых натриевых каналов электрофизиологическими методами [50].

### Канюли для трансплантации

На сегодняшний день ни одна из канюль не была одобрена для трансплантации клеток регулирующими органами, включая FDA. Для клинических испытаний используют разные типы канюль, специально разработанные или адаптированные для других целей.

Одной из основных проблем, связанных с прямой трансплантацией, является потенциальный риск повреждения паренхимы канюлей. Сообщается, что риск кровоизлияния в мозг при введении электрода во время операции по глубокой стимуляции головного мозга составляет приблизительно 2–5%. Трансплантация стволовых клеток предположительно имеет такой же или более высокий риск осложнения [51].

Стереотаксически имплантированная прямая канюля является наиболее распространенным методом трансплантации клеток в мозг как в доклинических испытаниях, так и в исследованиях на людях. Канюлю можно доставить в целевую область

с помощью нейронавигационной системы. Затем канюля действует как направляющий канал, через который иглу или меньший катетер для доставки вводят в целевую область и соединяют через замок Люэра с ручной или автоматической системой шприцев.

За последние несколько десятилетий благодаря большому количеству инноваций была усовершенствована конструкция канюли для повышения жизнеспособности, точности и надежности доставки клеток. Уменьшение диаметра канюли с 2,5 мм до <100 мкм снижает травматичность и воспаление ткани и улучшает выживаемость трансплантата.

В настоящее время в клинических испытаниях по стереотаксической имплантации СК используют 4 вида канюль (**Табл. 2**).

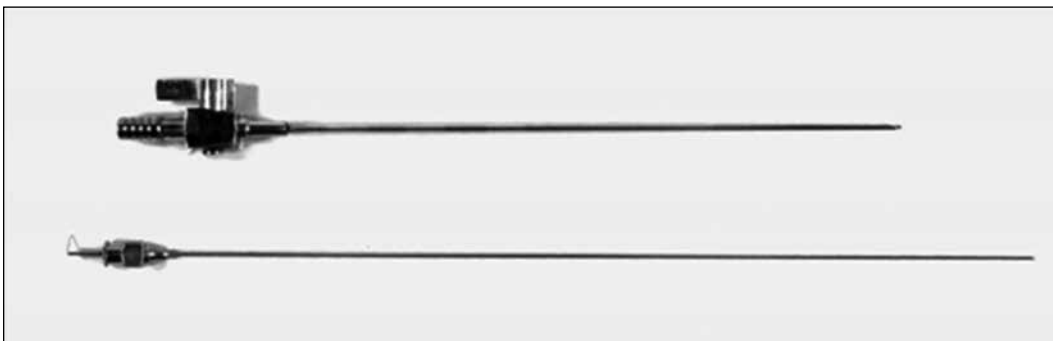
Еще одним полезным нововведением является автоматизированная система шприцев, которая улучшает последовательность объемной доставки клеток. Оптимизация жизнеспособности трансплантата привела к сокращению времени от подготовки клеток до имплантации, поскольку жизнеспособность может уменьшаться на 10–15% с каждым часом.

Изучают наиболее подходящие среды носителей клеток: фосфатно-солевой буфер, искусственную спинномозговую жидкость, модифицированную среду Дульбекко (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), HypoThermosol и Pluronic [52].

1. D. Kondziolka с коллегами из Питтсбургского университета (Сан-Франциско, США) с 2004 г. для имплантации клеток используют прямую канюлю из 100% нержавеющей стали (**Рис. 5**). Втулка изготовлена из никелированной латуни. Наружный диаметр канюли – 0,89 мм, внутренний диаметр отверстия – 0,25 мм, объем канюли – 20 мкл. Она помещена в более короткую, стабилизирующую 15-сантиметровую жесткую канюлю. В собранном виде длина

**Таблица 2.** Канюли для имплантации

Канюля	Материал	Наружный диаметр, мм	Диаметр отверстия, мм	Объем, мкл	Длина, см
Pittsburg	Нержавеющая сталь	0,89	0,25	20,0	19,0
MK01	Нержавеющая сталь	1,50	0,30	23,9	19,0
RBD	Фотополимер Accura 60	1,57	0,74	50,0	33,4
Cleveland	Пропитанный барием силикон	2,50	0,38	20,0	19,3



**Рис. 5.** Канюля Питтсбургского университета

канюли составляет 19 см. Это радиус стереотаксической дуги Лекселла [53].

Прямая канюля была адаптирована с интраоперационной магнитно-резонансной томографией (МРТ) для мониторинга и улучшения инфузии предварительно помеченных клеток в режиме реального времени. Режимы МРТ при работе с прямой канюлей приведены в **Табл. 3**.

2. Канюля Masahito Kawabori МК01 (Саппоро, Япония), (**Рис. 6**). Длина канюли МК01 – 19 см. Внутренний объем – 23,9 мкл. Характерной особенностью МК01 является то, что отверстие для выброса клеток спроектировано так, что оно расширяется в виде конуса и находится на боковой стороне иглы, на расстоянии 7 мм от дистального конца. Кончик канюли имеет сферическую форму [54].

3. D. Lim из Калифорнийского университета в Сан-Франциско (США) в 2018 г. описал оригинальную канюлю для имплантации СК Radially Branched Deployment (RBD) device (**Табл. 4, Рис. 7**) [52]. Канюля RBD состоит из трех основных узлов: направляющей канюли (внешней и внутренней), катетера

доставки и проводниковой втулки. Последняя прикрепляется к МРТ-совместимой прицельной платформе, которая определяет начальную траекторию канюли в паренхиме головного мозга.

При полном разворачивании катетер может достигать расстояния до 2 см от направляющей канюли, система принимает древовидную форму (**Рис. 8**).

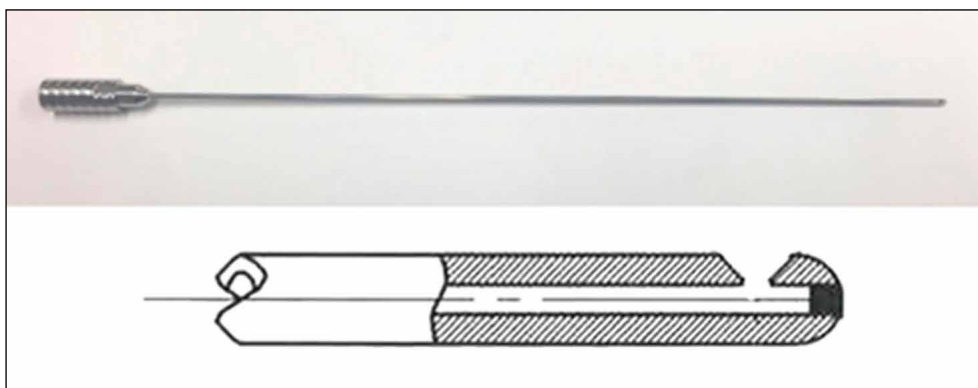
4. М. Vogelbaum с коллегами из нейрохирургической клиники Кливленда (США) с 2014 г. проводят клинические испытания мультипортового катетера для введения цитостатического препарата топотекана интрацеребрально у пациентов с глиобластомой (**Рис. 9**). Этот катетер планируется использовать также для лечения большого количества неврологических заболеваний, включая нейродегенеративные, инсульт и эпилепсию [56].

Катетер изготовлен из пропитанного бариером силикона. В основном катетере размещены 4 независимых инфузионных микрокатетера из политетрафторэтилена. Диаметр основного катетера составляет 2,5 мм, наружный диаметр каждого микрокатетера – 0,38 мм.

**Таблица 3.** Режимы МРТ при стереотаксической имплантации стволовых клеток [30]

Режим	Время эха (Time to echo (TE)), мс	Время повторения (Time to repetition (TR)), мс	Время инверсии (Inversion time (TI)), мс	Угол поворота (Flip Angle (FA)), °
T1-FLAIR	8,5	2,5	920	
T1	1,5	7,2	500	
T2	109,2	5,0		
T2*	22,0	670,0		10
T2-FLAIR	140,0	10,0	2250	

Толщина среза – 5 мм, зазор между срезами – 1,5 мм.

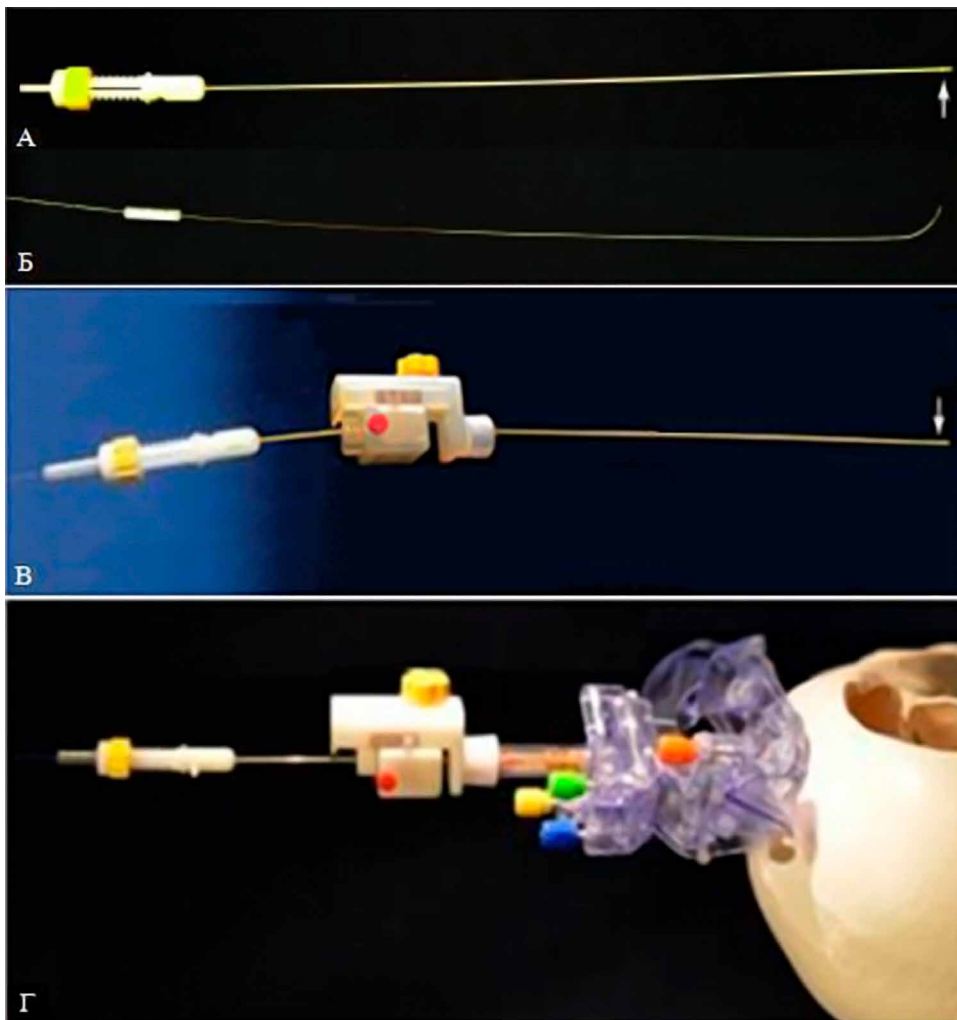


**Рис. 6.** Канюля Masahito Kawabori МК01

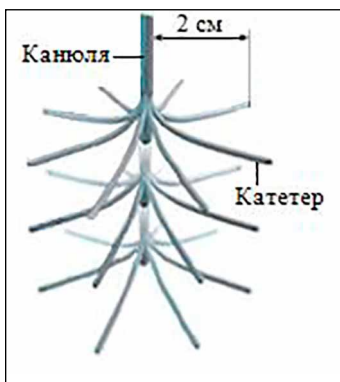
**Таблица 4.** Спецификация канюли RBD

RBD	Проксимальный конец	Дистальный конец	Длина, см	Наружный диаметр, мм	Внутренний диаметр, мм
Внешняя направляющая канюля	Фотополимер Ассига 60	Полиэфирэфиркетон	30,0	1,57	1,06
Внутренняя направляющая канюля	Фотополимер Ассига 60	Нейлон 12	33,4	1,00	0,74
Катетер доставки	Нейлон 12	Нейлон 12	41,7	0,64	0,38
J-образный плунжер	Нитинол (никелид титана)	Нитинол, кончик из фторопласта-2	47,5	0,38	–

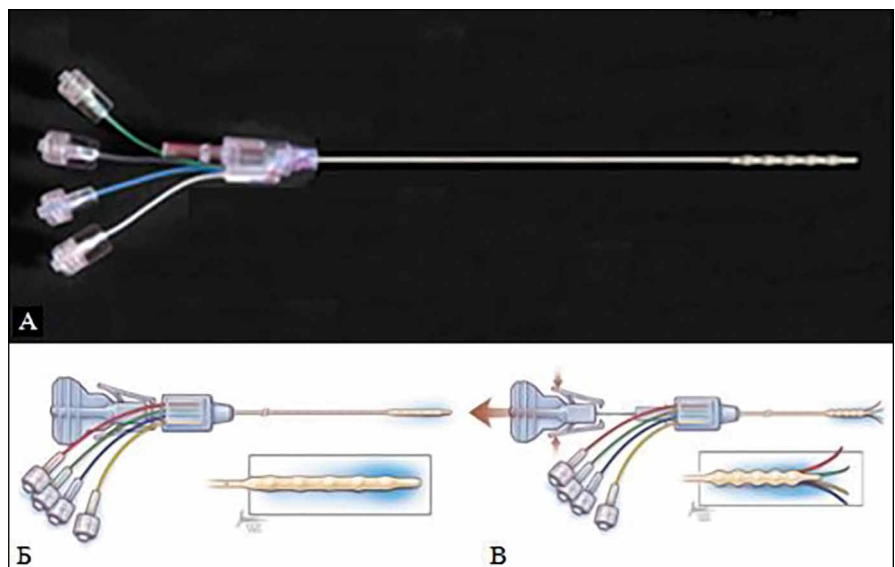




**Рис. 7.** Канюля RBD: А – направляющая канюля; Б – катетер доставки; В – канюля с проводниковой втулкой; Г – весь модуль с прицельной платформой (Russell R. Lonser. Nervous system drug delivery: Principles and Practice. Elsevier Inc., USA, 2019).



**Рис. 8.** Древоидная форма катетеров доставки (по M.Silvestrini et al. [55] с изменениями)



**Рис. 9.** Мультипортовый катетер Кливленда: А – общий вид; Б, В – до и после развертывания инфузионных микрокатетеров

### Результаты завершенных клинических исследований

Проанализированы результаты завершенных клинических исследований в период с 2015 г. по

настоящее время. В **Табл. 5** представлены данные о 15 клинических исследованиях, в которых приняли участие 513 пациентов, из них 142 были в контрольной группе.

**Таблица 5.** Завершенные клинические исследования

Автор, страна, год	Количество пациентов и контрольная группа	Время после инсульта	Тип клеток	Количество клеток	Путь введения	Срок наблюдения
A. Taguchi, Япония, 2015 [35]	12	7 сут	АМККМ	2,5·10 <sup>8</sup> и 3,4·10 <sup>8</sup>	в/в	6 мес
<p><i>Эффективность:</i> среднее улучшение по шкале NIHSS составило 4,8, преимущественно в группе с большей дозой СК, по мШР и индексу Бартел – без изменений</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> не отмечено</p>						
D. Kalladka, Великобритания, 2016 [30]	11	6–60 мес	Аллогенные человеческие иммортализованные НСК СТХ-DR	2–20·10 <sup>6</sup>	ст.	24 мес
<p><i>Эффективность:</i> улучшение неврологического дефицита при введении 20·10<sup>6</sup> НСК (статистически незначимое)</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> вазогенный отек вещества мозга вокруг трансплантата, субдуральные гематомы, кровотечения в зоне трепанационного отверстия, судорожный синдром, связанных с клеточной терапией не выявлено</p>						
G. Steinberg, США, 2016 [31]	18	6–60 мес	Аллогенные модифицированные СК SB623	2,5·10 <sup>6</sup> , 5,0·10 <sup>6</sup> и 10·10 <sup>6</sup>	ст.	12 мес
<p><i>Эффективность:</i> средний балл по шкале NIHSS снизился по сравнению с исходным уровнем на 2,00 через 12 мес. По мШР – без изменений</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> субдуральные гематомы, судорожный синдром, пневмония; связанных с клеточной терапией не выявлено</p>						
A. Ghali, Египет, 2016, [42]	21/18	1–12 нед	АМККМ	1·10 <sup>6</sup> в 100 мл	в/а	12 мес
<p><i>Эффективность:</i> нет статистически значимых по сравнению с контролем улучшений по шкале NIHSS, мШР и индексу Бартел, а также по объему очага инфаркта мозга</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> умеренно выраженная почечная недостаточность у 2 лиц</p>						
D. Hess, США и Великобритания, 2017 [36]	65/61	12–48 ч	Аллогенные МСК (мультипотентные прогениторные клетки костного мозга)	4–12·10 <sup>8</sup>	в/в	12 мес
<p><i>Эффективность:</i> улучшение по шкале NIHSS на ≥75% у 49% пациентов экспериментальной группы по сравнению с 46% лицами в контрольной группе. Через 1 год индекс по мШР ≤2 достигнут у 51% пациентов экспериментальной группы и 44% лиц контрольной группы</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> тошнота, рвота, лихорадка, озноб, галитоз, серьезных – не выявлено</p>						
Y. Jin, Китай, 2017 [34]	10/10	3 нед – 5 мес	АМККМ	1·10 <sup>7</sup>	и/т	7 лет
<p><i>Эффективность:</i> через 4 года оценка по шкале NIHSS в экспериментальной группе была значительно ниже, чем в контрольной; различия между группами по индексу Бартел и мШР не были значимыми через 4 года, однако они стали значительными через 5 лет</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> повышенная температуры тела в течение трех дней</p>						
A. Bhasin, Индия, 2017 [37]	6/6	3 мес – 2 года	Аутологичные МСК	5-6·10 <sup>7</sup>	в/в	4 года
<p><i>Эффективность:</i> индекс Бартел – статистически значимое улучшение через 156 и 208 нед.</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> субфебрильная температура, мышечные судороги</p>						
V. Bhatia, Индия, 2018 [43]	10/10	8–15 сут	АМККМ	6,1·10 <sup>8</sup>	в/а	6 мес
<p><i>Эффективность:</i> по шкале NIHSS и индексу Бартел – незначительное улучшение, 8 (80%) пациентов в группе вмешательства показали хороший клинический результат (оценка по мШР &lt;2)</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> связанных с клеточной терапией не выявлено. Умерли три пациента (два – в контрольной группе, у одного в группе лечения развился новый инфаркт через 2,5 мес на противоположной стороне)</p>						

Продолжение таблицы 5

Автор, страна, год	Количество пациентов и контрольная группа	Время после инсульта	Тип клеток	Количество клеток	Путь введения	Срок наблюдения
D. Laskowitz, США, 2018 [38]	10	3–10 сут	Аллогенные МСК из пуповинной крови	$3,34 \cdot 10^6$ /кг массы тела	в/в	3 мес
	<p><i>Эффективность:</i> через 3 мес у всех участников улучшение как минимум на 1 балл по мШР и как минимум на 4 балла по шкале NIHSS по сравнению с исходным уровнем</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> серьезных не выявлено</p>					
S. Savitz, США, 2018 [44]	29/16	13–19 сут	Аутологичные СК ALD-401	$3,08 \cdot 10^6$	в/а	12 мес
	<p><i>Эффективность:</i> через год нет статистически значимых по сравнению с контролем улучшений по шкале NIHSS, мШР и индексу Бартел</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> эпилептические приступы (частота в 4 раза выше в группе лечения). Один пациент умер на 354-й день после повторного инсульта</p>					
J. Fang, Китай, 2019 [39]	10/6	1–7 сут	Аутологичные ПЭК (50%) и МСК (50%)	$2,5 \cdot 10^6$ /кг массы тела дважды	в/в	4 года
	<p><i>Эффективность:</i> оценка по шкале NIHSS снизилась с 12,20 до 5,60 через 3 мес и до 3,00 – через 48 мес, оценка по мШР – с 3 до 2 через 3 мес и до 1 – через 48 мес</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> тромбоз глубоких вен, фибрилляция предсердий</p>					
M. Levy, США, 2019 [40]	36 Группа I (n=15), Группа II (n=21)	>6 мес	Аллогенные МСК	Группа I – 0,5, 1,0 и 1,5 млн/кг массы тела, Группа II – 1,5 млн/кг массы тела	в/в	4,5 года
	<p><i>Эффективность:</i> улучшение на 2 балла по шкале NIHSS. Индекс Бартел увеличился на 8 баллов через 6 мес и на 12 баллов – через 12 мес. Улучшение по гериатрической шкале депрессии (Geriatric Depression Scale (GDS-15)) и шкале оценки психического статуса (Mini-Mental State Examination (MMSE))</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> инфекции, сосудистые нарушения и болевой синдром</p>					
G. Zhang, Китай, 2019 [32]	9 (три группы по 3 пациента)	5 мес – 2 года	Нейральные СК NSI-566	Группа A – $1,2 \cdot 10^7$ , группа B – $2,4 \cdot 10^7$ , группа C – $7,2 \cdot 10^7$	ст.	24 мес
	<p><i>Эффективность:</i> значимые улучшения по шкалам NIHSS, Фугл-Мейера и тесту оценки функции руки (Action Research Arm Test (ARAT)). Через 6 мес у всех девяти субъектов наблюдали новую ткань, происходящая из полости инфаркта</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> у 2 пациентов через 3 мес отмечены изолированные парциальные приступы, у 1 – кровоизлияние по ходу канюли</p>					
A. Jaillard, Франция, 2020 [41]	16/15	1-2 мес	АМККМ	$1-3 \cdot 10^8$	в/в	24 мес
	<p><i>Эффективность:</i> улучшение лишь индекса Бартел</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> изолированные парциальные приступы у 6 пациентов</p>					
K. Muir, Великобритания, 2020 [33]	23	2–13 мес	Аллогенные фетальные МСК	$2 \cdot 10^7$	ст.	24 мес
	<p><i>Эффективность:</i> по шкале NIHSS ни один из участников не продемонстрировал изменение на <math>\geq 10</math> баллов. Улучшение по шкале ARAT на 6 баллов у 5 пациентов, по мШР на 1 балл – у 7, индекса Бартел на 9 баллов – у 8 через 12 мес</p> <p><i>Побочные эффекты:</i> всего 17 у 11 пациентов: 2 случая смерти (сепсис на 241-й день и суицид через 7 дней после последнего визита), не связанные с процедурой, инфаркт головного мозга, выявленный в 1-й день у пациента со стенозом сонной артерии, субдуральное кровоотечение (2-й день), головная боль и рвота (2–4-е сутки), парциальные судорожные приступы и сепсис у одного участника через 21 день, которые могли быть связаны с клетками СТХ0Е03, у 3 пациентов возникла гипотензия во время операции, у 2 из них также была брадикардия</p>					

*Примечание:* ст. – стереотаксически; в/в – внутривенно; в/а – внутриаартериально; и/т – интратекально; АМККМ – аутологичные мононуклеарные клетки костного мозга; МСК – мезенхимальные стволовые клетки; ПЭК – прогениторные эндотелиальные клетки; мШР – модифицированная шкала Рэнкина.

### Окно трансплантации

Одиннадцать клинических испытаний проведены в отдаленный период ишемического инсульта (от нескольких недель до 60 мес от начала заболевания). Лишь в 1 исследовании [36] трансплантация СК была выполнена в течение первых 12–72 ч от начала симптоматики, еще в 3 СК вводили в течение первой недели (Табл. 6) [35, 38, 39].

Трансплантация внутриартериально и внутривенно с использованием большого количества клеток (до  $10^9$ ) предпочтительна в острый и подострый период инсульта, интрацеребрально с меньшим количеством клеток ( $10^7$ ) – в хронический период.

### Тип стволовых клеток для трансплантации

В 3 исследованиях пациентам вводили аутологичные СК, выделенные из костного мозга – МСК [37, 39, 44], в 5 – мононуклеарные клетки [34, 35, 41–43], в остальных – использовали аллогенные СК из разных источников: МСК из пуповинной крови [38] и костного мозга [36, 40], трансфицированные МСК линии SB623 [31], иммортализованные НСК [30].

### Безопасность клеточной терапии

При внутримозговом введении отмечены побочные эффекты, связанные с процедурой трансплантации: кровотечение в области трепанационного отверстия и по ходу канюли, субдуральные гематомы, судорожный синдром. После сосудистой трансплантации в 3 из 10 исследований возникли парциальные судорожные приступы. Ни в одном из клинических испытаний не выявлено связанных с терапией жизнеугрожающих

побочных реакций (возникновение опухолей или реакции иммунологического отторжения).

Лишь в четырех исследованиях мониторинг проводили в течение 4–7 лет после трансплантации, в остальных – в течение 2 лет или менее. Чтобы исключить возможность побочных эффектов, особенно туморогенеза, необходимо долгосрочное наблюдение.

### Эффективность клеточной терапии

В 12 из 15 исследований отмечено улучшение функционального исхода по окончании периода наблюдения. Оценка неврологического статуса проводили по шкале тяжести инсульта Национальных институтов здоровья США (National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)), функционального статуса – по модифицированной шкале Рэнкина (Modified Rankin Scale (mRS)), двигательной активности – по индексу Бартел (Barthel Index (BI)). Использовались также другие шкалы – Фугл-Мейера (Fugl-Meyer assessment scale (FMA)), модифицированную шкалу Эшворта (Modified Ashworth Scale (MAS)), шкалу оценки качества жизни при инсульте (EQ-5D scale) и функциональной независимости (Functional Independence Measure (FIM)), Скандинавскую шкалу инсульта (Scandinavian Stroke Scale (SSS)), Гериатрическую шкалу депрессии (Geriatric Depression Scale (GDS-15)), краткую шкалу оценки психического статуса (Mini-Mental State Examination (MMSE)).

Во всех работах эффективность трансплантации СК была подтверждена нейровизуализацией. Например, G. Zhang и соавт. [32] к концу 6-месячного наблюдения у всех девяти пациентов выявили новую ткань, происходящую из полости инфаркта после стереотаксического введения нейральных СК NSI-566.

### Текущие клинические испытания по клеточной терапии при ишемическом инсульте

В 2020 г. на сайте www.clinicaltrials.gov зарегистрировано более 6 тыс. исследований применения СК для терапии разных заболеваний (Рис. 10).

В настоящее время время 41,2% клинических исследований СК продолжаются, а 44,5% – завершены. Из зарегистрированных исследо-

Таблица 6. Введение стволовых клеток в разные периоды инсульта

Путь введения	Период инсульта		
	Острый (24–36 ч)	Подострый (1 нед – 6 мес)	Хронический >6 мес
Внутривенно	1	3	3
Внутриартериально		3	
Инtrateкально			1
Стереотаксически			4



Рис. 10. Клинические исследования стволовых клеток при разных заболеваниях (А) и инсульте (Б)

ваний СК только 0,73% проводятся при инсульте, из них 38,6% завершены, а 27,3% – в настоящее время продолжаются. Интересно, что 25% испытаний при инсульте были отменены, еще 9,1% – прекращены или приостановлены из-за отсутствия финансирования.

Все завершённые испытания относятся к фазе 1 и 2 и только 1 из 5 переходит к следующей фазе. Из 13 в настоящее время продолжающихся испытаний только 2 достигли фазы 3, в них определяют эффективность внутривенной трансплантации аутологичных СК [57]. В среднем клинические испытания заняли 3,3 года от начала до завершения. Исходя из собранных данных можно предположить, что клеточная терапия инсульта займет более 10 лет для перехода от фазы 1 к фазе 3 без учета каких-либо предшествующих доклинических испытаний.

### Выводы

Лечение стволовыми клетками и клинические испытания проводятся уже более 40 лет, однако мы все еще на ранних стадиях терапии стволовыми клетками, которую используют в качестве эффективного метода лечения, альтернативного традиционным методам на основе фармацевтических препаратов.

Большая часть ранних работ в клинических испытаниях стволовых клеток была сосредоточена на общей эффективности и безопасности соответствующих процедур. Основной проблемой любого нового лечения является долгосрочная безопасность и стандартизация результатов. Проведено большое количество исследовательских работ, посвященных этим клиническим испытаниям. Они показали многообещающие результаты первоначальных испытаний в разных странах.

### Раскрытие информации

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Этические нормы

Эта статья представляет собой обзор литературы, поэтому одобрения этического комитета не требовалось.

#### Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

### References

- Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Delling FN, Djousse L, Elkind MSV, Ferguson JF, Fornage M, Khan SS, Kissela BM, Knutson KL, Kwan TW, Lackland DT, Lewis TT, Lichtman JH, Longenecker CT, Loop MS, Lutsey PL, Martin SS, Matsushita K, Moran AE, Mussolino ME, Perak AM, Rosamond WD, Roth GA, Sampson UKA, Satou GM, Schroeder EB, Shah SH, Shay CM, Spartano NL, Stokes A, Tirschwell DL, VanWagner LB, Tsao CW; American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2020 Mar 3;141(9):e139-e596. doi: 10.1161/CIR.0000000000000757. PMID: 31992061.
- Global stroke fact sheet – World Stroke Organization, 2020. [https://www.world-stroke.org/assets/downloads/WSO\\_Global\\_Stroke\\_Fact\\_Sheet.pdf](https://www.world-stroke.org/assets/downloads/WSO_Global_Stroke_Fact_Sheet.pdf)
- Roth GA, Johnson C, Abajobir A, Abd-Allah F, Abera SF, Abyu G, Ahmed M, Aksut B, Alam T, Alam K, Alla F, Alvis-Guzman N, Amrock S, Ansari H, Ärnlöv J, Asayesh H, Atey TM, Avila-Burgos L, Awasthi A, Banerjee A, Barac A, Barnighausen T, Barregard L, Bedi N, Belay Ketema E, Bennett D, Berhe G, Bhutta Z, Bitew S, Carapetis J, Carrero JJ, Malta DC, Castañeda-Orjuela CA, Castillo-Rivas J, Catalá-López F, Choi JY, Christensen H, Cirillo M, Cooper L Jr, Criqui M, Cundiff D, Damasceno A, Dandona L, Dandona R, Davletov K, Dharmaratne S, Dorairaj P, Dubej M, Ehrenkrantz R, El Sayed Zaki M, Faraon EJA, Esteghamati A, Farid T, Farvid M, Feigin V, Ding EL, Fowkes G, Gebrehiwot T, Gillum R, Gold A, Gona P, Gupta R, Habtewold TD, Hafezi-Nejad N, Hailu T, Hailu GB, Hankey G, Hassen HY, Abate KH, Havmoeller R, Hay SI, Horino M, Hotez PJ, Jacobsen K, James S, Javanbakht M, Jeemon P, John D, Jonas J, Kalkonde Y, Karimkhani C, Kasaeian A, Khader Y, Khan A, Khang YH, Khara S, Khoja AT, Khubchandani J, Kim D, Kolte D, Kosen S, Krohn KJ, Kumar GA, Kwan GF, Lal DK, Larsson A, Linn S, Lopez A, Lotufo PA, El Razek HMA, Malekzadeh R, Mazidi M, Meier T, Meles KG, Mensah G, Meretoja A, Mezgebe H, Miller T, Mirrakhimov E, Mohammed S, Moran AE, Musa KI, Narula J, Neal B, Ngalesoni F, Nguyen G, Obermeyer CM, Owolabi M, Patton G, Pedro J, Qato D, Qorbani M, Rahimi K, Rai RK, Rawaf S, Ribeiro A, Safiri S, Salomon JA, Santos I, Santric Milicevic M, Sartorius B, Schutte A, Sepanlou S, Shaikh MA, Shin MJ, Shishehbor M, Shore H, Silva DAS, Sobngwi E, Stranges S, Swaminathan S, Tabarés-Seisdedos R, Tadele Atnafu N, Tesfay F, Thakur JS, Thrift A, Topor-Madry R, Truelsen T, Tyrovolas S, Ukwaja KN, Uthman O, Vasankari T, Vlassov V, Vollset SE, Wakayo T, Watkins D, Weintraub R, Werdecker A, Westerman R, Wiysonge CS, Wolfe C, Workicho A, Xu G, Yano Y, Yip P, Yonemoto N, Younis M, Yu C, Vos T, Naghavi M, Murray C. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Jul 4;70(1):1-25. doi: 10.1016/j.jacc.2017.04.052. PMID: 28527533; PMCID: PMC5491406.
- Kravets OV. [Structure of Rendering Emergency and Early Hospital Procedures in Acute Vascular Events]. *Collection of scientific works of staff member of P. L. Shupyk NMAPE*. 2014;(23(2)):219-26. Ukrainian. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Znpsnmapo\\_2014\\_23\(2\)\\_32](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Znpsnmapo_2014_23(2)_32)
- Saver JL. Time is brain--quantified. *Stroke*. 2006 Jan;37(1):263-6. doi: 10.1161/01.STR.0000196957.55928.ab. PMID: 16339467.
- Desai SM, Rocha M, Jovin TG, Jadhav AP. High Variability in Neuronal Loss. *Stroke*. 2019 Jan;50(1):34-37. doi: 10.1161/STROKEAHA.118.023499. PMID: 30566036.
- Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol*. 1994;12:991-1045. doi: 10.1146/annurev.iy.12.040194.005015. PMID: 8011301.
- Gülke E, Gelderblom M, Magnus T. Danger signals in stroke and their role on microglia activation after ischemia. *Ther Adv Neurol Disord*. 2018 May 22;11:1756286418774254. doi: 10.1177/1756286418774254. PMID: 29854002; PMCID: PMC5968660.
- Roh JS, Sohn DH. Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases. *Immune Netw*. 2018 Aug 13;18(4):e27. doi: 10.4110/in.2018.18.e27. PMID: 30181915; PMCID: PMC6117512.
- Chavez JC, Hurko O, Barone FC, Feuerstein GZ. Pharmacologic interventions for stroke: looking beyond the thrombolysis time window into the penumbra with biomarkers, not a stopwatch. *Stroke*. 2009 Oct;40(10):e558-63. doi: 10.1161/STROKEAHA.109.559914. PMID: 19745180.
- Thomalla G, Simonsen CZ, Boutitie F, Andersen G, Berthezene Y, Cheng B, Cheripelli B, Cho TH, Fazekas F, Fiehler J, Ford I, Galinovic I, Gellissen S, Golsari A, Gregori J, Günther M, Guibernau J, Häusler KG, Hennerici M, Kemmling A, Marstrand J, Modrau B, Neeb L, Perez de la Ossa N, Puig J, Ringleb P, Roy P, Scheel E, Schonewille W, Serena J, Sunaert S, Villringer K, Wouters A, Thijs V, Ebinger M, Endres M, Fiebich JB, Lemmens R, Muir KW, Nighoghossian N, Pedraza S, Gerloff C; WAKE-UP Investigators. MRI-Guided Thrombolysis for Stroke with Unknown Time of Onset. *N Engl J Med*. 2018 Aug 16;379(7):611-622. doi: 10.1056/NEJMoa1804355. PMID: 29766770.
- Lisiani MI. [Cell therapy in experimental TBI]. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2020;26(2):5-13. Ukrainian. doi: 10.25305/unj.191943.
- Houkin K, Abe K, Kuroda S, editors. *Cell Therapy Against Cerebral Stroke: Comprehensive Reviews for Translational*

- Researches and Clinical Trials. Tokyo: Springer; 2017. doi: 10.1007/978-4-431-56059-3.
14. Boshuizen MCS, Steinberg GK. Stem Cell-Based Immunomodulation After Stroke: Effects on Brain Repair Processes. *Stroke*. 2018 Jun;49(6):1563-1570. doi: 10.1161/STROKEAHA.117.020465. PMID: 29724892; PMCID: PMC6063361.
  15. Dabrowska S, Andrzejewska A, Lukomska B, Janowski M. Neuroinflammation as a target for treatment of stroke using mesenchymal stem cells and extracellular vesicles. *J Neuroinflammation*. 2019 Sep 12;16(1):178. doi: 10.1186/s12974-019-1571-8. PMID: 31514749; PMCID: PMC6743114.
  16. Tobin MK, Stephen TKL, Lopez KL, Pergande MR, Bartholomew AM, Cologna SM, Lazarov O. Activated Mesenchymal Stem Cells Induce Recovery Following Stroke Via Regulation of Inflammation and Oligodendrogenesis. *J Am Heart Assoc*. 2020 Apr 7;9(7):e013583. doi: 10.1161/JAHA.119.013583. PMID: 32204666; PMCID: PMC7428606.
  17. Xu W, Zheng J, Gao L, Li T, Zhang J, Shao A. Neuroprotective Effects of Stem Cells in Ischemic Stroke. *Stem Cells Int*. 2017;2017:4653936. doi: 10.1155/2017/4653936. PMID: 28757878; PMCID: PMC5512103.
  18. Benedek A, Cernica D, Mester A, Opincariu D, Hodas R, Rodean I, Keri J, Benedek T. Modern Concepts in Regenerative Therapy for Ischemic Stroke: From Stem Cells for Promoting Angiogenesis to 3D-Bioprinted Scaffolds Customized via Carotid Shear Stress Analysis. *Int J Mol Sci*. 2019 May 25;20(10):2574. doi: 10.3390/ijms20102574. PMID: 31130624; PMCID: PMC6566983.
  19. Koh SH, Park HH. Neurogenesis in Stroke Recovery. *Transl Stroke Res*. 2017 Feb;8(1):3-13. doi: 10.1007/s12975-016-0460-z. PMID: 26987852..
  20. Lu J, Manaenko A, Hu Q. Targeting Adult Neurogenesis for Poststroke Therapy. *Stem Cells Int*. 2017;2017:5868632. doi: 10.1155/2017/5868632. PMID: 28808445; PMCID: PMC5541797.
  21. Horie N, Hiu T, Nagata I. Stem cell transplantation enhances endogenous brain repair after experimental stroke. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2015;55(2):107-12. doi: 10.2176/nmc.ra.2014-0271. PMID: 25746304; PMCID: PMC4533406.
  22. Ottoboni L, von Wunster B, Martino G. Therapeutic Plasticity of Neural Stem Cells. *Front Neurol*. 2020 Mar 20;11:148. doi: 10.3389/fneur.2020.00148. PMID: 32265815; PMCID: PMC7100551.
  23. Zhang W, Zhu L, An C, Wang R, Yang L, Yu W, Li P, Gao Y. The blood brain barrier in cerebral ischemic injury—Disruption and repair. *Brain Hemorrhages*. 2020 Mar 1;1(1):34-53. doi: 10.1016/j.hest.2019.12.004
  24. Bang OY, Kim EH. Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicle Therapy for Stroke: Challenges and Progress. *Front Neurol*. 2019 Mar 12;10:211. doi: 10.3389/fneur.2019.00211. PMID: 30915025; PMCID: PMC6422999.
  25. Doepfner TR, Bähr M, Giebel B, Hermann DM. Immunological and non-immunological effects of stem cell-derived extracellular vesicles on the ischaemic brain. *Ther Adv Neurol Disord*. 2018 Jul 26;11:1756286418789326. doi: 10.1177/1756286418789326. PMID: 30083231; PMCID: PMC6071165.
  26. Tian T, Zhang HX, He CP, Fan S, Zhu YL, Qi C, Huang NP, Xiao ZD, Lu ZH, Tannous BA, Gao J. Surface functionalized exosomes as targeted drug delivery vehicles for cerebral ischemia therapy. *Biomaterials*. 2018 Jan;150:137-149. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.012. PMID: 29040874.
  27. Phinney DG, Pittenger MF. Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem Cells*. 2017 Apr;35(4):851-858. doi: 10.1002/stem.2575. Erratum in: *Stem Cells*. 2017 Sep;35(9):2103. PMID: 28294454.
  28. Zhu Z, Kalyan BS, Chen L. Therapeutic potential role of exosomes for ischemic stroke. *Brain Science Advances*. 2019 Jun;5(2):128-43. doi: 10.26599/BSA.2019.9050013
  29. Li Y, Cheng Q, Hu G, Deng T, Wang Q, Zhou J, Su X. Extracellular vesicles in mesenchymal stromal cells: A novel therapeutic strategy for stroke. *Exp Ther Med*. 2018 May;15(5):4067-4079. doi: 10.3892/etm.2018.5993. PMID: 29725359; PMCID: PMC5920496.
  30. Kalladka D, Sinden J, Pollock K, Haig C, McLean J, Smith W, McConnachie A, Santosh C, Bath PM, Dunn L, Muir KW. Human neural stem cells in patients with chronic ischaemic stroke (PISCES): a phase 1, first-in-man study. *Lancet*. 2016 Aug 20;388(10046):787-96. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30513-X. PMID: 27497862.
  31. Steinberg GK, Kondziolka D, Wechsler LR, Lunsford LD, Coburn ML, Billigen JB, Kim AS, Johnson JN, Bates D, King B, Case C, McGrogan M, Yankee EW, Schwartz NE. Clinical Outcomes of Transplanted Modified Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Stroke: A Phase 1/2a Study. *Stroke*. 2016 Jul;47(7):1817-24. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.012995. PMID: 27256670; PMCID: PMC5828512.
  32. Zhang GL, Zhu ZH, Wang YZ. Neural stem cell transplantation therapy for brain ischemic stroke: Review and perspectives. *World J Stem Cells*. 2019 Oct 26;11(10):817-830. doi: 10.4252/wjsc.v11.i10.817. PMID: 31692854; PMCID: PMC6828598.
  33. Muir KW, Bulters D, Willmot M, Sprigg N, Dixit A, Ward N, Tyrrell P, Majid A, Dunn L, Bath P, Howell J, Stroemer P, Pollock K, Sinden J. Intracerebral implantation of human neural stem cells and motor recovery after stroke: multicentre prospective single-arm study (PISCES-2). *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020 Apr;91(4):396-401. doi: 10.1136/jnnp-2019-322515. PMID: 32041820; PMCID: PMC7147186.
  34. Jin Y, Ying L, Yu G, Nan G. Analysis of the long-term effect of bone marrow mononuclear cell transplantation for the treatment of cerebral infarction. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2017 Jan 1;10(2):3059-68. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:197463836>
  35. Taguchi A, Sakai C, Soma T, Kasahara Y, Stern DM, Kajimoto K, Ihara M, Daimon T, Yamahara K, Doi K, Kohara N, Nishimura H, Matsuyama T, Naritomi H, Sakai N, Nagatsuka K. Intravenous Autologous Bone Marrow Mononuclear Cell Transplantation for Stroke: Phase1/2a Clinical Trial in a Homogeneous Group of Stroke Patients. *Stem Cells Dev*. 2015 Oct 1;24(19):2207-18. doi: 10.1089/scd.2015.0160. PMID: 26176265; PMCID: PMC4582686.
  36. Hess DC, Wechsler LR, Clark WM, Savitz SI, Ford GA, Chiu D, Yavagal DR, Uchino K, Liebeskind DS, Auchus AP, Sen S, Sila CA, Vest JD, Mays RW. Safety and efficacy of multipotent adult progenitor cells in acute ischaemic stroke (MASTERS): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol*. 2017 May;16(5):360-368. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30046-7. PMID: 28320635.
  37. Bhasin A, Kumaran SS, Bhatia R, Mohanty S, Srivastava MVP. Safety and Feasibility of Autologous Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Chronic Stroke in Indian patients. A four-year follow up. *J Stem Cells Regen Med*. 2017 May 30;13(1):14-19. doi: 10.46582/j سرم.1301003. PMID: 28684893; PMCID: PMC5494434.
  38. Laskowitz DT, Bennett ER, Durham RJ, Volpi JJ, Wiese JR, Frankel M, Shpall E, Wilson JM, Troy J, Kurtzberg J. Allogeneic Umbilical Cord Blood Infusion for Adults with Ischemic Stroke: Clinical Outcomes from a Phase I Safety Study. *Stem Cells Transl Med*. 2018 Jul;7(7):521-529. doi: 10.1002/sctm.18-0008. PMID: 29752869; PMCID: PMC6052613.
  39. Fang J, Guo Y, Tan S, Li Z, Xie H, Chen P, Wang K, He Z, He P, Ke Y, Jiang X, Chen Z. Autologous Endothelial Progenitor Cells Transplantation for Acute Ischemic Stroke: A 4-Year Follow-Up Study. *Stem Cells Transl Med*. 2019 Jan;8(1):14-21. doi: 10.1002/sctm.18-0012. PMID: 30156755; PMCID: PMC6312444.
  40. Levy ML, Crawford JR, Dib N, Verkh L, Tankovich N, Cramer SC. Phase I/II Study of Safety and Preliminary Efficacy of Intravenous Allogeneic Mesenchymal Stem Cells in Chronic Stroke. *Stroke*. 2019 Oct;50(10):2835-2841. doi: 10.1161/STROKEAHA.119.026318. PMID: 31495331.
  41. Jaillard A, Hommel M, Moisan A, Zeffiro TA, Favre-Wiki IM, Barbieux-Guillot M, Vadot W, Marcel S, Lamalle L, Grand S, Detante O; (for the ISIS-HERMES Study Group). Autologous Mesenchymal Stem Cells Improve Motor Recovery in Subacute Ischemic Stroke: a Randomized Clinical Trial. *Transl Stroke Res*. 2020 Oct;11(5):910-923. doi: 10.1007/s12975-020-00787-z. PMID: 32462427.
  42. Ghali AA, Yousef MK, Ragab OA, ElZamarany EA. Intra-arterial Infusion of Autologous Bone Marrow Mononuclear Stem Cells in Subacute Ischemic Stroke Patients. *Front Neurol*. 2016 Dec 16;7:228. doi: 10.3389/fneur.2016.00228. PMID: 28018286; PMCID: PMC5159483.
  43. Bhatia V, Gupta V, Khurana D, Sharma RR, Khandelwal

- N. Randomized Assessment of the Safety and Efficacy of Intra-Arterial Infusion of Autologous Stem Cells in Subacute Ischemic Stroke. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2018 May;39(5):899-904. doi: 10.3174/ajnr.A5586. PMID: 29545253; PMCID: PMC7410650.
44. Savitz SI, Yavagal D, Rappard G, Likosky W, Rutledge N, Graffagnino C, Alderazi Y, Elder JA, Chen PR, Budzik RF Jr, Tarrel R, Huang DY, Hinson JM Jr. A Phase 2 Randomized, Sham-Controlled Trial of Internal Carotid Artery Infusion of Autologous Bone Marrow-Derived ALD-401 Cells in Patients With Recent Stable Ischemic Stroke (RECOVER-Stroke). *Circulation*. 2019 Jan 8;139(2):192-205. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030659. PMID: 30586746.
45. Liu H, Honmou O, Harada K, Nakamura K, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD. Neuroprotection by PIGF gene-modified human mesenchymal stem cells after cerebral ischaemia. *Brain*. 2006 Oct;129(Pt 10):2734-45. doi: 10.1093/brain/awl207. PMID: 16901914; PMCID: PMC2605397.
46. Guzman R, Janowski M, Walczak P. Intra-Arterial Delivery of Cell Therapies for Stroke. *Stroke*. 2018 May;49(5):1075-1082. doi: 10.1161/STROKEAHA.117.018288. PMID: 29669876; PMCID: PMC6027638.
47. Baker EW, Kinder HA, West FD. Neural stem cell therapy for stroke: A multimechanistic approach to restoring neurological function. *Brain Behav*. 2019 Mar;9(3):e01214. doi: 10.1002/brb3.1214 PMID: 30747485; PMCID: PMC6422715.
48. Martínez-Garza DM, Cantú-Rodríguez OG, Jaime-Pérez JC, Gutiérrez-Aguirre CH, Góngora-Rivera JF, Gómez-Almaguer D. Current state and perspectives of stem cell therapy for stroke. *Medicina Universitaria*. 2016 Jul 1;18(72):169-80. doi: 10.1016/j.rmu.2016.07.005
49. Rosado-de-Castro PH, Schmidt Fda R, Battistella V, Lopes de Souza SA, Gutfilen B, Goldenberg RC, Kasai-Brunswick TH, Vairo L, Silva RM, Wajnberg E, Alvarenga Americano do Brasil PE, Gasparetto EL, Maiolino A, Alves-Leon SV, Andre C, Mendez-Otero R, Rodriguez de Freitas G, Barbosa da Fonseca LM. Biodistribution of bone marrow mononuclear cells after intra-arterial or intravenous transplantation in subacute stroke patients. *Regen Med*. 2013 Mar;8(2):145-55. doi: 10.2217/rme.13.2. PMID: 23477395.
50. Manley NC, Azevedo-Pereira RL, Bliss TM, Steinberg GK. Neural stem cells in stroke: Intracerebral approaches. In: Hess D., editor. *Cell therapy for brain injury* Springer; 2015. P. 91-109. doi: 10.1007/978-3-319-15063-5\_7.
51. Martin AJ, Starr PA, Ostrem JL, Larson PS. Hemorrhage Detection and Incidence during Magnetic Resonance-Guided Deep Brain Stimulator Implantations. *Stereotact Funct Neurosurg*. 2017;95(5):307-314. doi: 10.1159/000479287. PMID: 28889128.
52. Winkler EA, Lim DA. Stem Cell Transplantation for Neurological Disease: Technical Considerations and Delivery Devices. In: Lonser RR, Sarntinoranont M, Bankiewicz K, editors. *Nervous System Drug Delivery: Principles and Practice*. Academic Press; 2019. P. 351-364. doi: 10.1016/B978-0-12-813997-4.00017-7.
53. Kondziolka D, Steinberg GK, Cullen SB, McGrogan M. Evaluation of surgical techniques for neuronal cell transplantation used in patients with stroke. *Cell Transplant*. 2004;13(7-8):749-54. doi: 10.3727/000000004783983350. PMID: 15690976.
54. Kawabori M, Tanimori A, Kitta S, Shichinohe H, Houkin K. Evaluation of Novel Stereotactic Cannula for Stem Cell Transplantation against Central Nervous System Disease. *Stem Cells Int*. 2020 Feb 11;2020:4085617. doi: 10.1155/2020/4085617. PMID: 32104184; PMCID: PMC7036105.
55. Silvestrini MT, Yin D, Coppes VG, Mann P, Martin AJ, Larson PS, Starr PA, Gupta N, Panter SS, Desai TA, Lim DA. Radially branched deployment for more efficient cell transplantation at the scale of the human brain. *Stereotact Funct Neurosurg*. 2013;91(2):92-103. doi: 10.1159/000343213. PMID: 23343609; PMCID: PMC3739996.
56. Vogelbaum MA, Brewer C, Barnett GH, Mohammadi AM, Peereboom DM, Ahluwalia MS, Gao S. First-in-human evaluation of the Cleveland Multiport Catheter for convection-enhanced delivery of topotecan in recurrent high-grade glioma: results of pilot trial 1. *J Neurosurg*. 2018 Apr 1:1-10. doi: 10.3171/2017.10.JNS171845. PMID: 29652233.
57. Krause M, Phan TG, Ma H, Sobey CG, Lim R. Cell-Based Therapies for Stroke: Are We There Yet? *Front Neurol*. 2019 Jun 25;10:656. doi: 10.3389/fneur.2019.00656. PMID: 31293500; PMCID: PMC6603096.