

УДК 615.3616:611.018.5:618.48]:616.8-085

I.Й. Щенявський\*, Д.О. Сальников, О.В. Чуб, О.С. Прокопюк

## Можливість застосування кордової крові в клітинній терапії патологій центральної нервової системи

UDC 615.3616:611.018.5:618.48]:616.8-085

### I.Y. Shcheniavskiy\*, D.O. Salnikov, O.V. Chub, O.S. Prokopyuk Feasibility of Cord Blood Application in Cell Therapy for Central Nervous System Pathologies

**Резюме:** У роботі проведено пошук та аналіз наукових публікацій, які містять інформацію щодо результатів досліджень, спрямованих на з'ясування можливості застосування кордової крові (КК) для терапії патологій нервової системи. Авторами не виявлено клінічних протоколів або рекомендацій, які б мали статус чинних, офіційних, тощо. Проте опубліковано значну кількість протоколів клінічних випробувань лікування неврологічних захворювань з використанням трансплантації клітин КК. В огляді наведено результати деяких експериментальних досліджень на моделях патологій центральної нервової системи та клінічних випробувань, в яких вивчався терапевтичний потенціал КК. Аналіз цих публікацій вказує на перспективність застосування КК у лікуванні різних патологій, у тому числі нейродегенеративних. Однак для реалізації терапевтичного потенціалу КК необхідне проведення подальших глибоких, цілеспрямованих і добре фінансованих досліджень та розширених клінічних випробувань. На думку авторів, у найближчому майбутньому важливо провести дослідження паракринної дії трансплантованих стовбурових клітин як альтернативи клітинної терапії.

**Ключові слова:** кріоконсервування, клітинна терапія, кордова кров, стовбурові клітини, патології нервової системи.

**Abstract:** This paper presents a search and analysis of scientific papers reporting about the findings aimed to elucidate the possibility of using cord blood (CB) for therapy of nervous system pathologies. The authors found neither clinical protocols nor recommendations that have either valid or official status, etc. But a significant number of clinical trial protocols for treating neurological diseases with CB cell transplantation have been published. The review shows the results of some experimental studies in the models of central nervous system pathologies and clinical trials that have studied the CB therapeutic potential. The analysis of these reports suggests the prospects for using CB in therapy of various pathologies, including neurodegenerative ones. However, further profound, targeted and well-funded researches and extended clinical trials are needed to realize the therapeutic potential of CB. The authors believe that in the nearest future it will be essential to study a paracrine effect of transplanted stem cells as an alternative to cell therapy.

**Key words:** cryopreservation, cell therapy, cord blood, stem cells, nervous system pathologies.

На сьогодні неврологічні захворювання за своєю поширеністю посідають одне з перших місць у світі. Умовно всі описані неврологічні розлади (всього понад 600) можна розділити на такі, що виникають раптово (інсульт), повторюються періодично (епілепсія), мають прогресуючий характер (хвороба Паркінсона) і стабільні (церебральний параліч). Ці захворювання становлять не тільки велику медичну, а й соціально-економічну проблему, оскільки можуть призводити до тимчасової/постійної або часткової/повної непрацездатності. Особливо це стосується таких важких неврологічних патологій, як інсульт, хвороба Гентінгтона, черепно-мозкова травма, травма спинного мозку, епілепсія, хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, хвороба Лайма, церебральний параліч, атаксія, бічний аміотро-

Today, neurological diseases are among the most common disorders worldwide. Conventionally, all the described neurological disorders (more than 600 totally) can be divided in those occurring suddenly (stroke), recurring periodically (epilepsy), being progressive (Parkinson's disease) and stable (cerebral palsy). These diseases represent not only a major medical but also a socio-economic problem, likely resulting in temporary/permanent or partial/total disability. This is especially relevant for such severe neurological pathologies as stroke, Huntington's disease, traumatic brain injury, spinal cord injury, epilepsy, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, Lyme disease, cerebral palsy, ataxia, amyotrophic lateral sclerosis, hypoxic-ischemic encephalopathy, and multiple sclerosis [54]. Due to the fact that phar-

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

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

\*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61016;  
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52  
електронна пошта: I.Y.Scheniavsky@nas.gov.ua

\*To whom correspondence should be addressed:

23, Pereyaslavska str., Kharkiv, Ukraine 61016;  
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 5952  
e-mail: I.Y.Scheniavsky@nas.gov.ua

Надійшла 30.05.2024

Прийнята до друку 12.09.2024

Received May, 30, 2024

Accepted September, 12, 2024

© Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2024

© Publisher Publishing House 'Akademperiodyka' of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2024

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

фічний склероз, гіпоксично-ішемічна енцефалопатія та розсіяний склероз [54]. У зв'язку з тим, що фармакологічні препарати, які наразі використовуються для полегшення симптомів і уповільнення перебігу неврологічних захворювань, є недостатньо або не завжди ефективними, ведеться пошук та випробування нових засобів та стратегій лікування. З кінця 20-го століття опубліковано багато робіт, присвячених вивченню можливості та ефективності клітинної терапії з використанням стовбурових клітин різного походження при ряді неврологічних захворювань, що підтверджено результатами експериментів на тваринах [2, 11, 17, 56, 91, 97], доклінічних та клінічних випробувань [12, 18, 21, 38, 44, 52, 54, 63–65, 69, 88].

Відомо, що ендогенні нервові стовбурові клітини (НСК) мають здатність до самовідновлення та формування нейронів і нейроглії, тому сформувалась думка: для терапії неврологічних захворювань з поміж всіх екзогенних стовбурових клітин найбільше прийнятними є саме НСК. Не-малозначною перевагою застосування НСК є той факт, що вони можуть краще взаємодіяти з ендогенним мікрооточенням та інтегруватись в ендогенну мережу хоста [15, 27, 34, 55, 66, 70, 74, 84, 89, 92, 101]. Проте в якості перспективного об'єкта для клітинної терапії неврологічних захворювань також розглядаються та активно випробовуються мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) кісткового мозку, жирової тканини, плаценти, пуповини, пульпи зуба, м'язів, маткової труби, вартанового желе, пуповинної, менструальної та периферичної крові, оскільки їх відносно легко отримувати, а використання джерел їхнього походження, на відміну від екзогенних НСК, не викликає серйозних логічних чи етичних питань [54].

Відомо, що кордова кров (КК) містить унікальні за якісними характеристиками популяції стовбурових клітин (СК), які можуть диференціюватися в спеціалізовані тканини, тому її визнано перспективним об'єктом для використання в клітинній терапії з метою відновлення пошкоджених тканин [1, 4, 31, 37]. Перевагами використання СК КК у клітинній терапії є неінвазивний забір та відсутність побічних ефектів для дитини і матері [13, 43, 60, 90]. Вважається, що СК КК знаходяться на проміжній віковій стадії між ембріональними та дорослими СК, тому вони мають вищий проліферативний потенціал та довші теломери, ніж інші соматичні стовбурові клітини [68, 78]. Крім того, ризики розвитку реакції трансплантат проти господаря (РТПГ) після трансплантації КК є значно нижчими, ніж після трансплантації кісткового мозку [62, 72]. Хоча кількість СК, особливо

macological drugs currently used to mitigate symptoms and inhibit the course of neurological diseases are not always efficient, the novel drugs and therapeutic strategies are being sought and tested. Since the end of the 20<sup>th</sup> century, many reports have been published on the possibility and efficiency of cell therapy using stem cells of various origins in certain neurological diseases, that has been confirmed by the results of experiments in animals [1, 10, 16, 56, 91, 97], preclinical and clinical trials [11, 17, 20, 38, 44, 52, 54, 63–65, 69, 88].

It is known that the endogenous neural stem cells (NSCs) have the ability to self-renew and form the neurons and neuroglia, so it is believed that NSCs are the most suitable among all the exogenous stem cells to treat neurological diseases. An important advantage of using the NSCs is their ability to interact more efficiently with the endogenous microenvironment and integrate into the host's endogenous network [14, 26, 34, 55, 66, 70, 74, 84, 89, 92, 101]. However, mesenchymal stem cells (MSCs) derived from bone marrow, adipose tissue, placenta, umbilical cord, dental pulp, muscles, fallopian tube, Wharton jelly, umbilical cord, menstrual, and peripheral blood are also being considered and actively tested as promising targets for cell therapy of neurological diseases, as they are relatively easy to procure and the use of their sources, unlike exogenous NSCs, does not raise serious logical or ethical issues [54].

The cord blood (CB) is known to contain the unique populations of stem cells (SCs) in terms of qualitative characteristics, capable to differentiate into specialized tissues, so it is recognized as a promising object for using in cell therapy to restore damaged tissues [3, 30, 31, 37]. The advantages of using the CB SCs in cell therapy are non-invasive sampling and no side effects for mother and baby [12, 43, 60, 90]. It is believed that CB SCs are at an intermediate age stage between embryonic and adult SCs, so they have a higher proliferative potential and longer telomeres versus other somatic stem cells [68, 78]. In addition, the risks of developing the graft-versus-host disease (GVHD) after CB transplantation are significantly lower than after bone marrow transplantation [62, 72]. Although the number of SCs, especially MSCs, is lower in CB as compared to some other sources, it is possible to combine several unrelated CB units for allogeneic transplantation [72]. The establishment of the CB low-temperature bank network and numerous experiments in development of efficient



МСК, у КК менша порівняно з деякими іншими джерелами, можливе поєднання декількох неспоріднених одиниць КК для алогенних трансплантацій [72]. Реалізації такому підходу в клінічній практиці сприяє створення мережі низькотемпературних банків КК та проведення численних експериментальних досліджень в напрямку розроблення ефективних технологій кріоконсервування клітинних елементів КК [1, 8–10, 20, 28–30, 58, 59, 75, 87, 102, 103]. Протягом останніх десятиліть спостерігається значний інтерес до лікування різних розладів, зокрема, у випадку необхідності регенерації або заміни критично пошкоджених/дефектних клітинних ліній, у тому числі при патологіях, які супроводжуються ураженням епітеліальних і нейрональних тканин [22, 71, 76, 93].

З урахуванням вищевикладеного метою даної роботи є пошук та аналіз наукових публікацій, що містять інформацію про дослідження, спрямовані на з'ясування можливості клінічного застосування СК КК та їхньої ефективності у лікуванні патологій нервової системи. Для вивчення цієї проблеми були проаналізовані наукові публікації, які доступні на платформах CrossRef, PubMed, PubMedCentral, Google Scholar, Guidelines International Network, International guideline library і в пов'язаних із ними базах даних клінічних протоколів лікування. Крім того, було здійснено пошук протоколів лікування з застосуванням клітинних елементів КК різних неврологічних захворювань: травм спинного мозку, геморагічного та ішемічного інсульту, церебрального паралічу, спиноцеребральної атаксії, хвороби Паркінсона, розсіяного і бічного аміотрофічного склерозу та ін. При цьому нам не вдалось виявити клінічні протоколи або рекомендації, які б мали статус чинних, офіційних. Проте була виявлена значна кількість протоколів клінічних випробувань трансплантації клітин КК для лікування неврологічних захворювань.

У попередніх клінічних дослідженнях *in vitro* була продемонстрована здатність стовбурових та плюрипотентних клітин КК ( мезенхімальних і гемопоетичних) до нейрональної диференціації [5, 16, 32, 33, 36, 42, 77, 80, 81, 98]. Так, продемонстрована здатність CD45<sup>+</sup>-клітин КК набувати під час культивування *in vitro* фенотипових та функціональних ознак дофамінергічних нейронів, олігодендроцитів і астроцитів [73].

За даними Е. Трасу та співавт. [85], після заморожування у кріоконсервованій КК зберігається до 74% клітин-попередників олігодендроцитів. Показано, що на першому етапі культивування клітини-попередники олігодендроцитів, отримані

cryopreservation technologies for CB cell elements promote the implementation of this approach in clinical practice [7-9, 19, 27, 28, 29, 31, 58, 59, 75, 87, 102, 103]. In recent decades, there has been considerable interest in therapy of various disorders, in particular, when it needed either to regenerate or replace critically damaged/defective cell lines, including in pathologies, accompanied by damage to epithelial and neuronal tissues [21, 71, 76, 93].

Considering the above, the research aim was to find and analyze the scientific papers reporting the possibilities of clinical application of CB SCs and their efficiency in therapy of nervous system pathologies. To explore this issue, we have analyzed scientific reports available on CrossRef, PubMed, PubMedCentral, Google Scholar, Guidelines International Network, International guideline library and related databases of treatment guidelines. In addition, we have searched for the treatment protocols using CB cell elements for various neurological diseases such as: spinal cord injuries, hemorrhagic and ischemic stroke, cerebral palsy, spinal cord ataxia, Parkinson's disease, multiple and amyotrophic lateral sclerosis, *etc.* At the same time, we have not managed to find any clinical protocols or guidelines that would have the status of valid, official ones. However, we found a significant number of clinical trial protocols for CB cell transplantation for treating neurological diseases.

Previous *in vitro* clinical studies have demonstrated the ability of CB stem and pluripotent cells (mesenchymal and hematopoietic) to neuronal differentiation [4, 15, 32, 33, 36, 42, 77, 80, 81, 98]. For example, the ability of CB-derived CD45<sup>+</sup> cells to acquire phenotypic and functional features of dopaminergic neurons, oligodendrocytes, and astrocytes during *in vitro* culture has been demonstrated [73].

According to E. Tracy *et al.* [85], in cryopreserved CB, up to 74% of oligodendrocyte progenitor cells are preserved after thawing. It has been shown that at the first stage of culture, the oligodendrocyte progenitor cells derived from the frozen-thawed CB mononuclear cells reveal a bipolar morphology, but over the next 2–3 weeks they develop branched processes that extrude from the cell body. According to the authors, this could make possible the treatment of acquired and genetic neurodegenerative disorders such as childhood leukodystrophies caused by defects in genes that regulate myelination (Pelizaeus-Merzbacher disease) and lysosomal storage diseases (Krabbe disease and metachromatic leuko-

з мононуклеарів з деконсервованої КК, виявляють біполярну морфологічну будову, але протягом наступних 2–3-х тижнів у них розвиваються розгалужені відростки, які відходять від тіла клітини. На думку авторів, це може уможливити лікування таких набутих та генетичних нейродегенеративних розладів, як дитячі лейкодистрофії, спричинені дефектами генів, що регулюють мієлінізацію (хвороба Пелізеуса-Мерцбахера), і лізосомальних хвороб накопичення (хвороба Краббе та метахроматична лейкодистрофія) за допомогою трансплантації олігодендроцитів, отриманих із СК КК.

Для стимуляції диференціації СК КК у різні підтипи нейронів використовували наступні ксенобіотики (дексаметазон, бета-меркаптоетанол, ізобутил-1-метилксантин, ретиноева кислота), а також інсулін, гама-інтерферон, фактор росту нервів [6, 7, 40, 41].

Підставою для перших спроб трансплантації СК КК пацієнтам із неврологічними розладами були результати експериментів на тваринах. Клітини КК використовували на тваринних моделях для лікування параплегії, атаксії, розсіяного склерозу, аміотрофічного латерального склерозу, цереброваскулярних захворювань, множинної системної атрофії, хвороб моторних нейронів та ін., що не викликало розвитку важких імунних реакцій [3, 14, 49–51].

Результати проведення дослідів на тваринах продемонстрували позитивні прогнози щодо трансплантації клітин КК під час лікування бокового аміотрофічного склерозу [18, 23, 26, 27].

V. Aidarova та співавт. [2] показали, що внутрішньочеревинне введення кріоконсервованих ядромісних клітин КК у поєднанні з ритмічною краніоцеребральною гіпотермією або окремо сприяє зменшенню вираженості дегенеративних процесів у тканині головного мозку шурів лінії SHR із моделлю дисциркуляторної енцефалопатії.

На моделі хвороби Альцгеймера у мишей після введення КК встановлено уповільнення розвитку захворювання, подовження тривалості життя і чітку редукцію типових для хвороби β-амілоїдних бляшок у мозку [67].

Результати дослідження на тваринних моделях ішемічного ураження головного мозку і травм спинного мозку довели, що клітини, отримані з КК, після інфузії можуть виживати в пошкоджених ділянках, а також сприяти виживанню і запобігати загибелі нейронів і клітин глії реципієнта [57]. У дослідях на тваринах показано, що інфузія субпопуляції CD34<sup>+</sup>-клітин викликає неоваскуляризацію в зоні ішемії та створює сприятливе середовище для ендогенного нейрогенезу, при-

dystrophy) by transplanting the CB SCs-derived oligodendrocytes.

The following xenobiotics (dexamethasone, beta-mercaptoethanol, isobutyl-1-methylxanthine, retinoic acid), as well as insulin, gamma-interferon, and nerve growth factor were used to stimulate the CB SCs differentiation into various neuronal subtypes [5, 6, 40, 41].

The first attempts to transplant CB SCs into patients with neurological disorders were based on the results of animal experiments. The CB cells have been used in animal models to treat paraplegia, ataxia, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, cerebrovascular disease, multiple systemic atrophy, motor neuron disease and others, without causing severe immune responses [2, 15, 49–51].

The results of experiments in animals have demonstrated positive prognoses for CB cell transplantation when treating amyotrophic lateral sclerosis [17, 22, 25, 26].

V. Aidarova *et al.* [1] have shown that intraperitoneal injection of cryopreserved nucleated CB cells in combination with rhythmic cranio-cerebral hypothermia or alone mitigated the severity of degenerative processes in brain tissue in SHR rats as a model of discirculatory encephalopathy.

In a model of Alzheimer's disease in mice, the CB administration demonstrated the slowing down of disease progress, prolongation of life expectancy, and a clear reduction of β-amyloid plaques in the brain [67].

Results of studies in animal models of cerebral ischemia and spinal cord injury have shown the CB-derived cells as capable to survive in the damaged areas after infusion, as well as promote the survival and prevent the death of recipient's neurons and glia cells [57]. Experiments in animals [82] demonstrated the infusion of subpopulation of CD34<sup>+</sup> cells to induce neovascularization in ischemic zone and create a favorable environment for endogenous neurogenesis by accelerating functional recovery of stroke model animals.

Proceeding from these and other studies in animals, a number of clinical trials have been launched to test the use of SCs (including CB-derived ones) to treat neurological disorders. Many reports on their safety and efficiency were published [20, 86].

The findings of W. Yang *et al.* [95] confirm the use of CB with a regenerative purpose for immune competent recipients not to require a complete match for human leukocyte antigen (HLA)



скорюючи функціональне відновлення тварин з моделлю інсульту [86].

На основі цих та інших досліджень на тваринах було розпочато проведення багатьох клінічних випробувань використання СК (у тому числі отриманих із КК) для лікування неврологічних розладів. У багатьох роботах повідомлялося про їхню безпеку та ефективність [21, 86].

Результати досліджень W. Yang та співавт. [95] є підтвердженням того, що використання КК із регенеративною ціллю для імунокомпетентних реципієнтів може не вимагає повного збігу за людським лейкоцитарним антигеном (HLA) та імуносупресією. Так, 114 пацієнтів з діагностованими негемопоетичними нейродегенеративними розладами (параплегія, атаксія, розсіяний склероз, латеральний аміотрофічний склероз, наслідки цереброваскулярних захворювань та ін.) отримували терапію неспівпадаючою за HLA аlogenною КК. Хворим на курс лікування були призначені дози, які містили  $1-3 \times 10^7$  мононуклеарних клітин КК. Всього було проведено 4–5 курсів інтратекального і внутрішньовенного введення. Оцінка безпеки включала аналіз небажаних явищ (зокрема, РТПГ), гематологічних, імунологічних та біохімічних параметрів. У результаті терапії не відзначалось серйозних небажаних ефектів. Через 30 днів після останньої ін'єкції відхилень від норми гематологічних, імунологічних та біохімічних параметрів не виявлено.

Відомо, що для лікування нейродегенеративних станів, які є наслідком спадкової атаксії, ефективних методів не існує. У відкритому дослідженні для лікування спадкової атаксії в якості потенційних модуляторів захворювання використовували мононуклеарні клітини (МНК) КК людини у поєднанні з реабілітаційною підготовкою. Групі з 30 пацієнтів із діагнозом спадкової атаксії системно вводили МНК КК шляхом внутрішньовенної інфузії, інтратекально або шийної чи поперекової пункції. Після лікування було відзначено зменшення патологічних симптомів і ознак. Оцінка за показниками шкали балансу Берга (BBS), сироватковими маркерами імуноглобуліну і підгрупи Т-клітин показала поліпшення порівняно зі станом до початку лікування. Ніяких побічних явищ не спостерігалось. Отримані дані свідчать на користь проведення розширених подвійних сліпих, плацебоконтрольованих досліджень даних методів лікування [94].

Повідомлялося про трансплантацію КК від неспоріднених донорів немовлятам із хворобою Краббе, яка є спадковою патологією, обумовленою мутацією гена галактоцеребросидази [24]. Основними продуцентами хвороби Краббе є лей-

and immune suppression. For example, 114 patients with diagnosed non-hematopoietic neurodegenerative disorders (paraplegia, ataxia, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, consequences of cerebrovascular diseases, *etc.*) were treated with HLA-mismatched allogeneic CB. For a treatment course, patients received the doses containing  $1-3 \times 10^7$  of CB mononuclear cells. A total of 4–5 courses of intrathecal and intravenous administration were performed. The safety assessment included the analysis of adverse effects (in particular, GVHD), hematologic, immunologic and biochemical parameters. No severe adverse effects were observed during therapy. There were no abnormalities in hematologic, immunologic, and biochemical parameters 30 days after the last injection.

It is known that there is no efficient therapy for neurodegenerative conditions resulting from hereditary ataxia. In an open-label study, for treating hereditary ataxia, the human CB-derived mononuclear cells (MNCs) were used as potential modulators of disease in combination with rehabilitation training. A group of 30 patients diagnosed with hereditary ataxia was systemically administered with MNCs by intravenous infusion, intrathecally, or by cervical or lumbar puncture. After treatment, a mitigation of pathological symptoms and signs was noted. Assessment by the Berg Balance Scale (BBS), serum markers of immunoglobulin and T-cell subgroup showed the improvement as compared to pre-treatment condition. No side effects were observed. The obtained data argue in favor of expanded double-blind, placebo-controlled trials of these therapies [94].

Bone marrow transplantation from unrelated donors has been reported in infants with Krabbe disease, which is a hereditary pathology caused by a mutation in galactocerebrosidase gene [23]. The main producers of Krabbe disease are leukocytes and fibroblasts. The deficiency of galactocerebrosidase activity results in accumulation of non-hydrolyzed lipids in myelin substance of peripheral and central nervous system. The neurotoxicity of these compounds (especially psychosine) initiates oligodendrocyte apoptosis, destruction of myelin sheath, and neuroglia infiltration by globular cells. The demyelination of nerve fibers disrupts the passage of nerve impulses, accompanied by motor skill disorder in patient. After myeloablative chemotherapy, 11 newborns aged from 12 to 44 days who had not yet manifested symptoms of Krabbe disease and 14 infants aged from 142 to 352 days with the disease symp-



коцити та фібробласти. Дефіцит активності галактоцереброзидази призводить до накопичення негідролізованих ліпідів у мієліновій речовині периферичної та центральної нервової системи. Нейротоксичність цих сполук (особливо, психозину) ініціює апоптоз олігодендроцитів, руйнування мієлінової оболонки, інфільтрацію нейроглії глобоїдними клітинами. Процес демієлінізації нервових волокон порушує проходження нервових імпульсів, що супроводжується розладом моторних навичок у пацієнта. Після проведення мієлоаблативної хіміотерапії 11 новонародженим віком від 12 до 44 днів, у яких симптоми хвороби Краббе ще не проявились, та 14 немовлятам віком від 142 до 352 днів з симптомами захворювання було проведено трансплантацію МНК збереженої КК від неспоріднених донорів із частковою невідповідністю HLA. Новонароджені отримали МНК КК у середньому по  $22,07 \times 10^7/\text{кг}$ , а старші немовлята — по  $17,24 \times 10^7/\text{кг}$  маси тіла. Середня кількість уведених  $\text{CD34}^+$ -клітин (визначена після розморожування) дорівнювала  $3,72 \times 10^5$  і  $2,92 \times 10^5$  клітин/кг маси тіла відповідно. Приживлення донорських клітин та виживання реципієнтів у групі новонароджених без симптомів захворювання становило 100 і 100% відповідно (медіана періоду подальшого спостереження 3,0 роки), а у групі новонароджених з симптомами — 100 і 43% відповідно (медіана періоду подальшого спостереження 3,4 роки). У пацієнтів, які вижили, відмічено більш тривалий строк приживлення донорських гемопоетичних клітин з відновленням нормальної активності галактоцереброзидази крові. У разі проведення трансплантації до розвитку симптомів захворювання у новонароджених відмічалась прогресивна мієлінізація в центральній нервовій системі та стабільні успіхи в набутті навичок, у більшості дітей когнітивні функції і навички рецептивної мови відповідали віку, але у деяких з них спостерігалася легка/помірна затримка розвитку експресивного мовлення і легка/виражена затримка загальної моторики. У дітей, яким було проведено трансплантацію після появи симптомів, мінімально покращився неврологічний стан [24]. Автори роблять висновки про безпеку та відсутність імунологічно опосередкованих побічних ефектів алогенної терапії КК від неспоріднених донорів із неповною відповідністю HLA за відсутності імуносупресії/мієлоабляції. На думку авторів, для визначення терапевтичної користі трансплантації МНК КК необхідні подальші тривалі спостереження за пацієнтами.

Кордова кров від неспоріднених донорів, очевидно, є хорошим джерелом СК для транспланта-

toms were transplanted with preserved CB MNCs from unrelated donors with partial HLA mismatch. Newborn infants received an average of  $22.07 \times 10^7/\text{kg}$  of CB MNCs, and older infants did  $17.24 \times 10^7/\text{kg}$  body weight. The average number of administered  $\text{CD34}^+$  cells (determined post thaw) was  $3.72 \times 10^5$  and  $2.92 \times 10^5$  cells/kg body weight, respectively. The donor cell engraftment and recipient survival in the group of newborns without symptoms were 100 and 100%, respectively (median follow-up period is 3.0 years), and in the group of newborns with symptoms – 100 and 43%, respectively (median follow-up period is 3.4 years). In survived patients, a longer period of engraftment of donor hematopoietic cells with restoration of normal blood galactocerebrosidase activity was noted. When transplanted prior to symptom development, progressive myelination in the central nervous system and stable progress in skill acquisition were noted in newborns; most children had age-appropriate cognitive functions and receptive language skills, but some had mild/moderate delay in expressive speech and mild/moderate delay in gross motor skills. Children who were transplanted after the symptom onset showed the minimal improvement in their neurological condition [23]. The authors concluded that allogeneic CB therapy from unrelated donors with incomplete HLA matching in the absence of immunologically mediated side effects was safe and free of immune suppression / myeloablative effects. The authors believe that further long-term follow-up of patients is necessary to determine the therapeutic benefit of CB MNCs transplantation.

Cord blood from unrelated donors is apparently a good source of SCs for transplantation in patients with Hurler syndrome, a hereditary mucopolysaccharidosis associated with iduronidase enzyme deficiency. Disorders in neurocognitive functions are known to be among the symptoms of this pathology. S. Staba *et al.* [78] have proved that stable engraftment of CB SCs may be achieved without whole-body irradiation. The CB donors (mean number of CB cells is  $10.53 \times 10^7/\text{kg}$  body weight) had normal alpha-L-iduronidase activity and were discordant for more than 3 of 6 HLA alleles. The doses of whole CB were selected so that the recipient received at least  $3 \times 10^7$  NCs/kg of body weight. Neutrophil engraftment was characterized by a median of 24 days after transplantation. In 5 patients, acute grade II or III GVHD was observed with no development of extensive chronic GVHD. There were 17 of 20 children who survived (survival



ції пацієнтам із синдромом Гурлера — спадковим мукополісахаридозом, який пов'язаний із дефіцитом фермента ідуронідази. Відомо, що одним з проявів даної патології є порушення нейрокогнітивних функцій. У дослідженнях S. Staba та співавт. [78] доведено, що стійке приживлення СК КК може бути досягнуто без опромінення всього тіла. Донори КК (середня кількість клітин КК —  $10,53 \times 10^7$ /кг маси тіла) мали нормальну активність альфа-L-ідуронідази і були дискордантними по більш ніж 3 із 6 алелей HLA. Дози цільної КК підбирали з таким розрахунком, щоб реципієнт отримував мінімум  $3 \times 10^7$  ЯМК/кг маси тіла. Приживлення нейтрофілів характеризувалося медіаною в 24 доби після трансплантації. У 5 пацієнтів спостерігалася гостра РТПГ II або III ступеня без розвитку екстенсивної хронічної РТПГ. Вижили 17 з 20 дітей (виживання без ускладнень — 85%, медіана виживання — 905 діб після трансплантації) з повним донорським химеризмом нормальною активністю альфа-L-ідуронідази периферичної крові. На думку авторів, трансплантація КК покращувала нейрокогнітивні функції та пригнічувала природний плин синдрому Гурлера і, отже, може вважатись перспективним методом лікування цієї форми захворювання у маленьких дітей.

Застосування інфузії МНК КК людини може стати потенційною терапевтичною стратегією лікування нейропсихіатричних та нейроповедінкових наслідків вірусного енцефаліту. Опубліковано звіт [93] про застосування трансплантації МНК КК людини як методу, який поліпшує прогноз наслідків енцефаліту, викликаного вірусом простого герпесу. В цьому звіті описано випадок 11-річного хлопчика з когнітивними, розумовими та руховими порушеннями, які розвинулись внаслідок вірусного енцефаліту протягом 8 місяців під час рутинного лікування. Було застосовано алогенну трансплантацію МНК КК у поєднанні з комплексною реабілітаційною терапією. Всього протягом 6 тижнів проведено 6 ін'єкцій ( $1\sim 3 \times 10^7$  МНК КК у кожній дозі, серед яких 1–2% склали  $CD34^+$ -клітини). Стан здоров'я пацієнта значно покращився і залишався стабільним впродовж 7 років спостереження [93].

Досліджено вплив трансплантації МНК КК людини та МСК пупкового канатика на рівні факторів росту в спинномозковій рідині пацієнтів з аутизмом [53]. Двадцять пацієнтів отримали дві внутрішньовенні та інтратекальні інфузії МНК КК, кожна з яких супроводжувалася двома інтратекальними ін'єкціями МСК пупкового канатика. Перед кожною інтратекальною ін'єкцією брали на аналіз по 2 мл спинномозкової рідини, в якій

without complications – 85%, median survival – 905 days after transplantation) with complete donor chimerism and normal peripheral blood alpha-L-iduronidase activity. The authors believe that CB transplantation improved neurocognitive functions and suppressed the natural course of Hurler syndrome and, therefore, can be considered as a promising treatment for this form of the disease in young children.

The use of human CB MNCs infusion may be a potential therapeutic strategy for treating neuropsychiatric and neurobehavioral consequences of viral encephalitis. A report has been published [93] on the use of human CB MNCs transplantation as a method that improves the prognosis of consequences of *Herpes simplex* encephalitis. This report describes the case of an 11-year-old boy with cognitive, mental and motor impairments that developed as a result of viral encephalitis over 8 months during routine treatment. The transplantation of allogeneic CB MNCs was used together with comprehensive rehabilitation therapy. A total of 6 injections were performed within 6 weeks ( $1\sim 3 \times 10^7$  of CB MNCs in each dose, where 1–2% were  $CD34^+$  cells). The patient's health improved significantly and remained stable during 7 years of follow-up [93].

The effect of transplantation of human CB MNCs and umbilical cord-derived MSCs on levels of growth factors in cerebrospinal fluid of patients with autism has been studied [53]. Twenty patients received two intravenous and intrathecal infusions of CB MNCs, each of them accompanied by two intrathecal injections of umbilical cord-derived MSCs. Before each intrathecal injection, 2 ml of cerebrospinal fluid was taken for analysis, in which a significant increase in levels of hepatocyte growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and nerve growth factor was noted after transplantation ( $p < 0.05$ ), but the level of basic fibroblast growth factor was not significantly changed ( $p > 0.05$ ). Another group of researchers performed a study aimed to evaluate the safety and clinical effects of autologous CB infusion in children with idiopathic autism spectrum disorders (ASD) [18]. This randomized, blinded, placebo-controlled, crossover study involved 29 children aged from 2 to 6 years with a confirmed diagnosis of ASD. Participants were randomly assigned to receive either CB or placebo. The patients' condition was assessed at baseline, 12 and 24 weeks after the start of treatment using the conventional techniques applied in neurology and psychiatry for psychological diagnosis and evaluation of ASD therapy efficiency, *i. e.* expres-



після трансплантації відзначалось значуще збільшення рівня фактора росту гепатоцитів, нейротрофічного фактора головного мозку, фактора росту нервів ( $p < 0,05$ ), а рівень основного фактора росту фібробластів значуще не змінився ( $p > 0,05$ ). Іншою групою вчених проведено дослідження, метою якого було оцінити безпеку та клінічні ефекти інфузії аутологічної КК у дітей з ідіопатичними розладами аутистичного спектра (РАС) [19]. У цьому рандомізованому, сліпому, плацебо-контрольованому перехресному дослідженні брали участь 29 дітей віком від 2 до 6 років з підтвердженим діагнозом РАС. Для отримання КК або плацебо учасників розподіляли шляхом рандомізації. Стан пацієнтів оцінювали на вихідному рівні, через 12 і 24 тижнів з початку курсу лікування за допомогою методів, які традиційно використовуються в неврології та психіатрії для психологічної діагностики і визначення ефективності терапії РАС (експресивний словниковий тест з одним словом, сприйнятливий словниковий тест з одним словом, клінічне загальне враження, міркування та знання Стенфорд-Біне, а також субшкали адаптивної поведінки та соціалізації Вайнленда). Серйозних побічних явищ виявлено не було. Спостерігалася тенденція до поліпшення, особливо в процесі соціалізації, але значущих відмінностей не виявлено. Результати цього дослідження показали, що аутологічні інфузії КК є безпечними для дітей з РАС [19]. Автори даної публікації вважають, що для оцінки можливості використання КК у терапії аутизму, наразі необхідне проведення додаткових жорстко контрольованих досліджень.

Застосування КК особливо привабливе для профілактичного або регенеративного лікування неонатальних захворювань. Були опубліковані результати ранніх клінічних досліджень щодо використання цих клітин як методу терапії новонароджених [99]. У даній статті представлено систематичний огляд опублікованих і зареєстрованих клінічних випробувань КК та МСК пуповини для лікування неонатальних захворювань. Виявлено лише 24 зареєстрованих та 12 завершених клінічних досліджень. Завершені випробування в основному стосувалися безпеки I та II фаз, тому оцінка терапевтичної ефективності на сьогоднішній день є обмеженою.

Клітинна терапія з використанням аутологічної кордової крові розглядається як перспективна стратегія запобігання таким ускладненням неонатальної гіпоксично-ішемічної енцефалопатії, як церебральний параліч, інтелектуальна недостатність та інші неврологічні розлади. Результати пілотного дослідження [86] 600 новонароджених

sive one-word vocabulary test, receptive one-word vocabulary test, clinical general impression, Stanford-Binet intelligence scale, as well as Vineland adaptive behavior scale. No serious side-effects were observed.

There was a tendency to improvement, especially during socialization, but no significant differences were found. These findings showed the CB autologous infusions to be safe for children with ASD [18]. The authors of this report believe that additional rigorously controlled studies are needed to evaluate the possibility of using CB in autism therapy.

The use of CB is particularly attractive for preventive or regenerative treatment of neonatal diseases. The results of early clinical trials on applying these cells as a therapy for newborns have been reported [99]. This article presents a systematic review of published and registered clinical trials of CB and umbilical cord-derived MSCs for the treatment of neonatal diseases. Only 24 registered and 12 completed clinical trials were identified. The completed trials were mainly phase I and II ones, so the assessment of therapeutic efficiency is currently limited.

Cell therapy using autologous cord blood is considered a hopeful strategy for preventing such complications of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy as cerebral palsy, intellectual disability, and other neurological disorders. The results of a pilot study [86] of 6 newborns with severe asphyxia showed that systemic administration of autologous cord blood (12–24, 36–48, and 60–72 hrs after birth) was beneficial and safe. All 6 infants lived without circulatory or respiratory support for 30 days. At the age of 18 months, four infants had normal neurofunctional development and no abnormalities, and two infants had developmental delay due to cerebral palsy (CP).

Cerebral palsy is the most common motor disorder in early childhood. Under the auspices of the American Association of Blood Banks, the efficiency of infusion of autologous CB in children with cerebral palsy has been studied [79]. To date, the results of this double-blind, placebo-controlled crossover study have been published. For the study, there were selected 63 children aged from 1 to 6 years, whose CB was collected, tested for compliance with the accepted standards and stored in a frozen state. Patients were followed up for 2 years. At the beginning of the study, patients were randomly assigned to receive the CB infusion or placebo followed by an alternative infusion one year later. The dose of adminis-





із важкою асфіксією показало, що системне введення аутологічної кордової крові (через 12–24, 36–48 і 60–72 години після народження) було корисним і безпечним. Усі 6 немовлят віком 30 днів жили без підтримки кровообігу чи дихання. У віці 18 місяців у чотирьох немовлят нервово-функціональний розвиток відповідав нормі і не мав будь-яких порушень, а у двох немовлят мала місце затримка внаслідок церебрального параліча (ДЦП).

Дитячий церебральний параліч є найбільш поширеним руховим порушенням у ранньому віці. Під егідою Американської асоціації банків крові (American Association of Blood Banks) проведено дослідження ефективності інфузії аутологічної КК дітям із діагнозом ДЦП [79]. На сьогодні вже опубліковано результати цього подвійного сліпого плацебо-контрольованого перехресного дослідження. Для його проведення було відібрано 63 дитини віком від 1 до 6 років, КК яких була зібрана, протестована на відповідність прийнятним стандартам та зберігалась у замороженому стані. Спостереження за пацієнтами проводили протягом 2-х років. На початку дослідження пацієнти були випадковим чином обрані для отримання інфузії КК або плацебо з подальшою альтернативною інфузією через рік. Доза введених ЯВК залежала від їх кількості в кожній конкретній одиниці і маси тіла пацієнта та становила  $1 \times 10^7$  –  $5 \times 10^7$  кл/кг. Функціональні оцінки були виконані підготовленими лікарями на початку лікування та через 1 і 2 роки після першої інфузії. Результати аналізу через рік після початку лікування показали, що пацієнти, яким вводили дозу ЯВК  $\geq 2 \times 10^7$  клітин/кг, мали значуще підвищення показників GMFM-66 порівняно з прогнозованими за віком, ступенем тяжкості та загальним коефіцієнтом рухової активності Peabody. При цьому така зміна значуще відрізнялася від тієї, що спостерігалась у суб'єктів, які отримували ЯВК у дозі  $< 2 \times 10^7$  клітин/кг або плацебо. Результати аналізу досліджуваних показників, здійсненого через 2 роки від першої інфузії, підтвердили залежність клінічного ефекту від дози ЯВК. Дані магнітно-резонансної томографії показали подібну кореляцію між дозою введених клітин та щільністю нейронних зв'язків у головному мозку. Пацієнти, які отримували  $\geq 2 \times 10^7$  ЯВК/кг маси тіла, через рік після початку лікування продемонстрували значуще збільшення щільності нейронних зв'язків у всьому мозку та вузлах сенсомоторної мережі (зокрема, в зонах пре- і постцентральної звивини, базальних гангліїв і стовбуру мозку). Вказані показники значно перевищували такі у дітей, яким призначали більш низькі дози клітин. При цьому

tered NCs depended on their number in each specific unit and the patient's body weight and ranged from  $1 \times 10^7$  to  $5 \times 10^7$  cells/kg. Functional assessments were performed by qualified physicians at baseline, 1 and 2 years after the first infusion. The analysis results one year after the start of treatment showed that patients who received a dose of NCs  $\geq 2 \times 10^7$  cells/kg had a significant increase in GMFM-66 indices as compared to those predicted by age, severity, and Peabody developmental motor scales. Herewith, this change was significantly different from that observed in patients receiving NCs at a dose of  $< 2 \times 10^7$  cells/kg or placebo. Results of the analysis of the studied parameters, performed 2 years after the first infusion, confirmed the dependence of clinical effect on NCs dose. The MRI data showed a similar correlation between the dose of administered cells and density of neural connections in brain. In a year post-treatment, patients who received  $\geq 2 \times 10^7$  NCs/kg of body weight showed a significant increase in density of neural connections throughout the brain and in the nodes of sensorimotor network (in particular, in the pre- and post-central gyrus, basal ganglia and brainstem). These indices were significantly higher than those of children who received lower doses of cells. At the same time, the efficiency of doses depended on the total number of NEs and was not related to the CD34<sup>+</sup> cell content. The autotransfusion of CB NCs was also confirmed to be completely safe for the health of cerebral palsy patients [80].

The aim of the randomized placebo-controlled study of 88 children aged from  $3.05 \pm 1.22$  years was to determine the synergistic and individual efficiency of CB cells and erythropoietin administration for treatment of cerebral palsy [61]. Allogeneic CB units were taken from the umbilical cord blood bank. Before administration, they were thawed and washed out to remove dimethyl sulfoxide. The criteria for selection of an allogeneic CB unit were the correspondence of HLA-A, HLA-B and DRB1 to at least four of the six alleles, the total number of NCs in a dose of  $\geq 3 \times 10^7$ /kg body weight and hemoglobin content  $\leq 1.36$  g/L. To provide the required dose of NCs, two units of CB of the same AB0 group were combined. The results of the study showed a significant improvement in gross motor skills in patients received CB and erythropoietin after 1 and 12 months as compared with the placebo group. This index was directly correlated with the total number of NCs in CB and the compliance to the recipient's HLA [61].



ефективність доз залежала від загальної кількості ЯВК і не була пов'язана з вмістом CD34<sup>+</sup>-клітин. Також було підтверджено цілковиту безпеку для здоров'я пацієнтів із ДЦП аутоінфузії ЯВК КК [80].

Ціллю рандомізованого плацебо-контрольованого дослідження 88 дітей віком ( $3,05 \pm 1,22$ ) років було визначення синергетичної та індивідуальної ефективності введення клітин КК та еритропоєтину для лікування ДЦП [61]. Алогенні одиниці КК було взято з банку пуповинної крові. Перед введенням їх розморожували та промивали для видалення диметилсульфоксиду. Критеріями підбору одиниці алогенної КК були відповідність HLA-A, HLA-B і DRB1 не менш ніж по 4 з 6 алелей, загальна кількість ЯВК у дозі  $\geq 3 \times 10^7/\text{кг}$  маси тіла та вміст гемоглобіну  $\leq 1,36$  г/л. Для забезпечення необхідної дози ЯВК об'єднували дві одиниці КК однієї групи АВ0. Результати дослідження продемонстрували значне покращення загальної моторики через 1 та 12 місяців у пацієнтів, яким вводили КК та еритропоєтин, порівняно з групою плацебо. Даний показник прямо корелював з загальною кількістю ЯВК у КК та відповідністю до HLA реципієнта [61].

Ретроспективне дослідження 47 пацієнтів-дітей із важким церебральним паралічем було спрямоване на оцінку безпеки інтратекальної інфузії алогенних СК КК [25]. Факторами ризику виникнення несприятливих явищ, які визначали за допомогою логістичного регресійного аналізу, були інтратекальна інфузія та вік на початку лікування ( $\leq 10$  років). Під час лікування у 26 пацієнтів (55,3%) мали місце побічні явища (лихоманка 42,6%, блювота 21,2%). При цьому летальних випадків зареєстровано не було, а всі побічні явища зникали після симптоматичного лікування. Протягом 6 місяців після лікування серйозних побічних явищ не виявлено. Зроблено висновок, що лікування алогенними СК КК є відносно безпечним для хворих на важкий церебральний параліч [25].

L. Huang та співавт. [39] було оцінено ефективність інфузії МСК КК як терапевтичної стратегії для лікування ДЦП. У даному дослідженні 27 пацієнтів отримали 4 внутрішньовенні інфузії МСК КК людини у дозі  $5 \times 10^7$  клітин/кг маси тіла та базову реабілітаційну терапію. Контрольна група (27 пацієнтів) пройшла стандартну базову реабілітацію як фонове лікування. Рівень покращення великих моторних функцій та підвищення загальних балів комплексної оцінки функції у групі пацієнтів, яким проводили інфузію МСК КК, були значно вищими, ніж у контрольній групі після 3, 6, 12, 24 місяців лікування. За даними рутинної магнітно-резонансної томографії виявлено

A retrospective study of 47 pediatric patients with severe cerebral palsy was focused on evaluating the safety of intrathecal infusion of allogeneic CB SCs [25]. Intrathecal infusion and age at the beginning of treatment ( $\leq 10$  years) were the risk factors for adverse events, which were determined by logistic regression analysis. During treatment, 26 patients (55.3%) experienced adverse events (fever –42.6%, vomiting –21.2%). No fatalities were reported, and all side effects disappeared after symptomatic treatment. No serious side effects were detected within 6 months after treatment. Treatment with allogeneic CB SCs is relatively safe for patients with severe cerebral palsy [24].

L. Huang *et al.* [39] evaluated the efficiency of CB MSCs infusion as a therapeutic strategy for therapy of cerebral palsy. In this study, 27 patients received 4 intravenous infusions of human CB MSCs at a dose of  $5 \times 10^7$  cells/kg body weight and basic rehabilitation therapy. The control group (27 patients) underwent standard basic rehabilitation as a background therapy. The level of improvement in gross motor function and an increase in the total score of comprehensive function assessment in the group of patients treated with CB MSCs infusion were significantly higher than in the control group after 3, 6, 12, 24 months of treatment. Routine magnetic resonance imaging revealed improvements in brain structure state after therapy, but they were rare. No severe side effects were observed during the entire study period. Based on these findings, the authors of this study suggested the infusion of CB MSCs together with basic rehabilitation to be a safe and efficient strategy for improving gross motor and complex functions in children with cerebral palsy [39].

There has been reported about completion of a phase I open-label study aimed at assessing the safety and feasibility of a single CB infusion that matches for AB0 but mismatches for HLA to patients with stroke [48]. The group consisted of 10 participants with acute ischaemic middle cerebral artery stroke. The CB units were matched for blood group antigens and race, but not for HLA, and were administered from day 3 to day 9 after stroke. A 12-month follow-up after the infusion period showed the patients to tolerate well the treatment. No severe adverse events directly related to the subject matter were revealed. The condition of trial participants was also assessed using neurological and functional tests, including the Modified Rankin Score (mRS) and the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS). Three months after the treatment, all patients showed improvement by at



поліпшення стану мозкових структур після лікування, проте вони були поодинокими. Протягом усього періоду дослідження не спостерігалось серйозних побічних явищ. На основі отриманих результатів автори цього дослідження зробили висновок, що інфузія МСК КК у комплексі з базовою реабілітацією є безпечною та ефективною стратегією для поліпшення грубих рухових та комплексних функцій у дітей із ДЦП [39].

Повідомляється про завершення I фази відкритого дослідження, спрямованого на оцінку безпеки та доцільності одноразової інфузії пацієнтам з інсультом КК, яка відповідає по АВ0, але не співпадає за HLA [48]. Групу склали 10 учасників із гострим ішемічним інсультом середньої мозкової артерії. Одиниці КК підбирали за груповими антигенами крові та расовою приналежністю, але не за HLA, вводили з 3- по 9-у добу після інсульту. Спостереження протягом 12 місяців після інфузійного періоду показало, що пацієнти добре переносили лікування. Серйозних небажаних явищ, безпосередньо пов'язаних із предметом дослідження, не встановлено. Стан учасників дослідження також визначали за допомогою неврологічних та функціональних тестів, у тому числі використовували модифіковану оцінку Rankin (mRS) та Національну шкалу інсульту для здоров'я (NIHSS). Через 3 місяці після лікування стан всіх пацієнтів покращився принаймні на один клас за mRS (середній показник  $2,8 \pm 0,9$ ) і принаймні на 4 бали за NIHSS (середній показник  $5,9 \pm 1,4$ ) відносно базового рівня. Отримані дані дозволяють припустити, що разова внутрішньовенна інфузія дози алогенних, не відповідних за HLA клітин КК людини, є безпечною для дорослих із ішемічним інсультом. На підставі одержаних результатів автори вважають доцільним проведення II фази рандомізованого, плацебо-контрольованого дослідження [48].

Повідомлялося про випадок успішного застосування МСК КК під час лікування пацієнта, у якого внаслідок пошкодження основної артерії діагностовано двосторонній інфаркт головного мозку з ураженням варолієвого моста, середнього мозку і мозочка [35]. Алогенні МСК отримували з КК без використання імунодепресантів. Після інтратекальних ін'єкцій МСК КК (всього було введено 9 одиниць) спостерігалась часткова реканалізація артерії. Незважаючи на те, що кожна введена одиниця КК містила HLA, який не відповідав пацієнту по 2 з 6 алелів, утворення алоантитіл до HLA не було виявлено. Автори зробили висновок, що для лікування інфаркту мозку можна безпечно застосовувати інтратекальну ін'єкцію кількох одиниць МСК КК.

least one mRS grade (mean  $2.8 \pm 0.9$ ) and at least 4 NIHSS points (mean  $5.9 \pm 1.4$ ) as compared to baseline. These data suggest a single intravenous infusion of a dose of allogeneic, HLA-mismatched human CB cells to be safe for adults with ischaemic stroke. Based on these findings, the authors consider it appropriate to conduct a phase II randomised, placebo-controlled trial [48].

There has been reported a case of successful use of CB MSCs in therapy of a patient, diagnosed with bilateral cerebral infarction with damage to the pons, midbrain and cerebellum due to the main artery injury [35]. Allogeneic MSCs were derived from CB with no use of immunosuppressants. After intrathecal injections of CB-derived MSCs (9 units were injected in total), partial artery recanalisation was observed. Despite the fact that each injected unit contained an HLA that mismatched the patient for 2 of the 6 alleles, no formation of alloantibodies to HLA was revealed. The authors concluded that intrathecal injection of several units of CB MSCs could be safely used to treat cerebral infarction.

Spinal cord injury is a severe neurological problem that is difficult to treat due to either neuron necrosis or apoptosis in the damaged area and dysfunction of astrocytes, oligodendrocytes, microglia and other non-neuronal cells, which prevents the spinal cord restoration. Current therapeutic strategies for treating spinal cord injury (corrective surgery and biological, physical and pharmacological therapies) can not ensure a complete recovery. In the study of Y. Yoo *et al.* [96], 25 patients with spinal cord injuries of more than 6 months were injected intravenously and intrathecally with human CB SCs ( $\geq 1 \times 10^7$  cells per dose, viability  $\geq 95\%$ ). The results of a 12-month observation after transplantation showed the restored functions of autonomic nerve and reduced latency of somatosensory evoked potentials.

No severe adverse responses were reported in patients after SCs transplantation. These experimental data show the human SC transplantation to be a safe and efficient method to treat patients with traumatic spinal cord injury, but further trials are needed to ensure the safety and long-term efficiency of this therapy. H. Zhu *et al.* [100] presented the results of studies of CB MNC transplantation efficiency in 28 patients with chronic complete spinal cord injury. The trials were conducted at two clinics. The HLA match in all the used CB MNC doses was  $\geq 4:6$ . In one of the clinics, four patients received 4 injections of 4  $\mu\text{L}$  (1.6 million cells) into dorsal entry zones above and below the injury site, and another four patients received 8  $\mu\text{L}$  (3.2 mil-



Серйозною неврологічною проблемою є травма спинного мозку, яку важко лікувати через некроз або апоптоз нейронів у пошкодженій ділянці та дисфункцію астроцитів, олігодендроцитів, мікроглії та інших ненеурональних клітин, що перешкоджає відновленню спинного мозку. Сучасні терапевтичні стратегії лікування травми спинного мозку (коригувальна хірургія та біологічна, фізична і фармакологічна терапія) не можуть забезпечити повне одужання пацієнта. У дослідженні Y. Yoo та співавт. [96] 25 пацієнтам, у яких травмовано спинний мозок більше 6 місяців, внутрішньовенно та інтратекально вводили СК КК людини ( $\geq 1 \times 10^7$  клітин на дозу, життєздатність  $\geq 95\%$ ). Результати спостережень протягом 12 місяців після трансплантації показали відновлення функцій вегетативного нерва і скорочення латентного періоду соматосенсорних викликаних потенціалів. У пацієнтів після трансплантації СК не було зареєстровано серйозних побічних реакцій. Ці експериментальні дані показують, що трансплантація СК КК людини є безпечним і ефективним методом лікування пацієнтів з травматичним ушкодженням спинного мозку, але для гарантованої безпеки та довгострокової ефективності цього лікування необхідно проведення подальших випробувань. У роботі Н. Zhu та співавт. [100] наведено результати досліджень ефективності трансплантації МНК КК 28 пацієнтам з хронічною повною травмою спинного мозку. Випробування проводились на базі двох клінік. Відповідність НЛА у всіх використаних дозах МНК КК реципієнта була  $\geq 4:6$ . У одній з клінік чотирьом пацієнтам проведено 4 ін'єкції по 4 мкл (1,6 млн клітин) у дорсальні зони входження задніх корінців у спинний мозок вище та нижче місця пошкодження, а ще чотирьом пацієнтам призначено ін'єкції по 8 мкл (3,2 млн клітин). Давність травми в середньому становила 13 років. Через 12 місяців після процедури у жодного хворого змін за показниками моторики, індексом ходьби для осіб з травмою спинного мозку (WISCI, Walking Index for Spinal Cord Injury) і шкалою оцінки незалежності спинного мозку (SCIM, Spinal Cord Independence Measure) виявлено не було. В другій клініці пацієнтів було розділено на 5 груп по 4 пацієнти в кожній. Перша група отримала чотири ін'єкції по 4 мкл (1,6 млн клітин), друга — 8 мкл (3,2 млн клітин), третя — 16 мкл (6,4 млн клітин), четверта — 6,4 млн клітин і додатково 30 мг/кг метилпреднізолону, п'ята — 6,4 млн клітин і додатково метилпреднізолон, а також 6-тижневий курс перорального прийому карбонату літію (750 мг/день). Давність травми у пацієнтів цієї клініки в середньому становила 7 років. Вони протягом 3–6 міся-

lion cells) injections. An average duration of the injury was 13 years. Twelve months after procedure, none of the patients showed the changes in motor skills, Walking Index for Spinal Cord Injury (WISCI) and Spinal Cord Independence Measure (SCIM). In the second clinic, patients were divided into 5 groups of 4 patients each. The first group received four injections of 4  $\mu$ l (1.6 million cells), the second – 8  $\mu$ l (3.2 million cells), the third – 16  $\mu$ l (6.4 million cells), the fourth - 6.4 million cells and an additional 30 mg/kg of methylprednisolone, the fifth – 6.4 million cells and an additional methylprednisolone, as well as a 6-week course of oral lithium carbonate (750 mg/day). An average duration of the injury in patients of this clinic was 7 years. For 3–6 months, they received intensive locomotor training. Before surgery, only two patients were able to walk a distance of 10 m with assistance and did not require bladder/bowel management. The rest of the patients could not walk independently or do their bladder and bowel management without assistance. Nearly in one year (41–87 weeks), 15 of 20 patients walked 10 m ( $p = 0.001$ ) and 12 of 20 patients did not require bladder ( $p = 0.001$ ) or bowel ( $p = 0.002$ ) management [100].

It should be noted that in all of the above studies, special attention was paid to a safe use of CB-derived cell preparations, and clinicians were here most unanimous in their conclusions.

More and more scientists are convinced that the therapeutic effects of exogenous SCs (including in therapy of neurological diseases) are due to their extracellular factors, *i. e.* paracrine function, which is strongly evidenced by the results of *in vitro* and *in vivo* experiments [10, 45, 46].

In a rat model of neonatal hypoxia/ischemia, the therapeutic effect of intravenous transplantation of MNCs isolated from fresh CB (up to 24 hrs after its collection) was under study [10]. At the early disease stage, the CB MNCs caused a temporary growth of microglia in the periventricular striatum, protected mature neocortical neurons from damage, and contributed to the almost complete normalisation of the affected brain in subventricular zone, which resulted in significant improvement in behavioural tests as compared to the control group. Despite the fact that 3 weeks after transplantation, very few CB MNCs were detected in the brain, the improvement in behavioural functions persisted. The authors believe that a long-term positive impact of CB MSCs results from their paracrine effects, which stimulate brain restoration after damage and protect it from further injury.



ців інтенсивно тренували опорно-руховий апарат. Перед операцією лише двоє пацієнтів були здатні проходити відстань у 10 м із сторонньою допомогою, і лікування сечового міхура/кишечника не потребували. Решта хворих не могла самостійно ходити або виконувати акт випорожнення сечового міхура та кишечника. Приблизно через рік (41–87 тижнів) 15 з 20 пацієнтів проходили відстань у 10 м ( $p = 0,001$ ), при цьому 12 з 20 пацієнтів не потребували лікування сечового міхура ( $p = 0,001$ ) або кишечника ( $p = 0,002$ ) [100].

Слід зазначити, що у всіх згаданих дослідженнях питанню безпеки застосування клітинних препаратів КК приділялася особлива увага, і в цьому клініцисти були найбільш одностайні у своїх висновках.

Усе більше вчених схильні вважати, що терапевтичні ефекти екзогенних СК (у тому числі і під час лікуванні неврологічних захворювань) обумовлені їхніми позаклітинними факторами, тобто паракринною функцією, що переконливо підтверджується результатами експериментів *in vitro* та *in vivo* [11, 45, 46].

На щурячій моделі неонатальної гіпоксії/ішемії було досліджено [11] лікувальну дію внутрішньовенної трансплантації МНК, виділених із свіжої КК (до 24 годин після її взяття). На ранній стадії захворювання МНК КК викликали тимчасове нарощення мікроглії в перивентрикулярному смугастому тілі, захищали від пошкоджень зрілі нейрони неокортекса, сприяли майже повній нормалізації ураженого мозку в субвентрикулярній зоні, завдяки чому вдалося досягти значного покращення показників поведінкових тестів порівняно з групою контролю. Незважаючи на те, що через 3 тижні після трансплантації в мозку було виявлено дуже мало МНК КК, покращення поведінкових функцій зберігалося. На думку авторів, тривалий позитивний вплив МНК КК є результатом їхніх паракринних ефектів, які стимулюють відновлення пошкодженого мозку та захищають його від подальшого пошкодження.

D.H. Kim та співавт. [45, 46] у експериментах на трансгенних мишах із моделлю хвороби Альцгеймера продемонстрували зменшення кількості  $\beta$ -амілоїдних ( $A\beta$ ) бляшок і покращення когнітивних функцій піддослідних тварин після трансплантація МСК КК у гіпокамп. У зв'язку з обмеженою тривалістю життя трансплантованих клітин вони робили тваринам повторні ін'єкції, що завдяки паракринній дії МСК КК активувало ендогенний гіпокампулярний нейрогенез і значно знижувало рівень  $A\beta$ . З метою ідентифікації паракринних факторів, які вивільняються з МСК КК

D.H. Kim *et al.* [45, 46] in experiments in transgenic mouse model of Alzheimer's disease demonstrated a decreased number of  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) plaques and improvement of cognitive functions of experimental animals after CB MSCs transplantation into the hippocampus. Due to the limited lifespan of transplanted cells, they injected the animals repeatedly, that, due to a paracrine effect of CB MSCs, activated the endogenous hippocampal neurogenesis and significantly reduced  $A\beta$  levels. The *in vitro* experiments were performed to identify the paracrine factors that released from CB MSCs and stimulated endogenous hippocampal neurogenesis in the dentate gyrus. Neural stem cells from adult mouse brain were cultured together with CB MSCs and the impact of conditioning medium on cytokine content was analyzed. In the media, a significant increase in growth differentiation factor (GDF-15) was revealed. The inhibition of GDF-15 in CB MSCs with small interfering RNA reduced the NSCs proliferation in co-cultures. The *in vitro* experiments also showed GDF-15 to stimulate synaptic activity. Treatment with recombinant GDF-15 both *in vitro* and *in vivo* enhanced proliferation of hippocampal NSCs and neuronal differentiation. Repeated injection of CB MSCs significantly promoted the expression of synaptic vesicle markers, including synaptophysin, the level of which was reduced in patients with Alzheimer's disease. The results obtained suggest the repeated injection of CB MSCs into the cisterna magna to enhance the endogenous hippocampal neurogenesis and synaptic activity of endogenous NSCs through the paracrine factor GDF-15 [45, 46]. Thus, the use of paracrine effectors of SCs may well become an alternative to cell therapy.

Extracellular vesicles (EVs) or exosomes are considered to be fundamental paracrine effectors of MSCs that play a crucial role in intercellular communication [47, 83]. They are present in various body fluids and cell supernatants. Since the MSC-derived EVs retain the function of protocells and have lower immunogenicity, they exhibit a wider range of promising therapeutic applications as compared to cell therapy. Therefore, in the nearest future, researchers will focus on studying the possibility of using extracellular vesicles of MSCs (including CB-derived ones) to treat neurological diseases.

The analysis of scientific publications has shown many reports of clinical trials on cell therapy application (including CB use) to treat the central nervous system diseases. The first results of these trials were ambiguous, as they demonstrated either slight or temporary improvements in patients'



і стимулюють ендogenous нейрогенез гіпокампа в зубчастій звивині, було проведено експерименти *in vitro*. Нервові стовбурові клітини дорослих мишей культивували разом з МСК КК і аналізували вплив середовища кондиціонування на вміст цитокінів. Було виявлено значне підвищення в середовищах рівня фактора росту і диференціювання (GDF-15). Пригнічення GDF-15 у МСК КК малою інтерферуючою РНК зменшувало проліферацію НСК у поєднаних культурах. Також в експериментах *in vitro* було показано, що GDF-15 стимулював синаптичну активність. Лікування рекомбінантним GDF-15 як *in vitro*, так і *in vivo* посилювало проліферацію НСК гіпокампа та диференціювання нейронів. Повторне введення МСК КК помітно сприяло експресії маркерів синаптичних везикул, у тому числі синаптофізину, рівень якого у пацієнтів з хворобою Альцгеймера знижений. Одержані результати вказують на те, що повторне введення МСК КК у велику цистерну головного мозку посилює ендogenous гіпокампальний нейрогенез і синаптичну активність ендogenous НСК через паракринний фактор GDF-15 [45, 46]. Отже, використання паракринних ефекторів СК, цілком можливо, стане альтернативою клітинної терапії.

Фундаментальними паракринними ефекторами МСК, які відіграють вирішальну роль у міжклітинній комунікації, вважаються позаклітинні везикули (ПВ) або екзосоми [47, 83]. Вони присутні в різних рідинах організму та клітинних супернатантах. Оскільки ПВ, отримані з МСК, зберігають функцію протоклітин і мають нижчу імуногенність, їм, порівняно з клітинною терапією, притаманний більш широкий спектр перспективного терапевтичного застосування. Тому найближчим часом зусилля дослідників будуть зосереджені саме на вивченні можливості використання позаклітинних везикул МСК (у тому числі і виділених із КК) для лікування неврологічних захворювань.

Аналіз наукової літератури показав, що в останні роки існує багато повідомлень про клінічні випробування щодо застосування клітинної терапії (у тому числі з використанням КК) для лікування захворювань центральної нервової системи. Перші результати цих випробувань принесли неоднозначні результати, оскільки продемонстрували незначні або тимчасові поліпшення стану пацієнтів. До сьогодні залишається важливим питання, яке стосується здатності донорських СК замінювати пошкоджені клітини реципієнта.

## Висновки

Основними перевагами СК КК порівняно з СК, отриманими з інших джерел, є доступність,

condition. To date, the ability donor SCs to replace damaged recipient cells has remained a relevant issue.

## Conclusions

The main advantages of CB-derived SCs vs. those procured from other sources are their availability, multipotency, immunological naïvety and no ethical issues in their procurement and use. In addition, for GVHD prevention no strict HLA and immunosuppression matching are needed for CB SC transplantation.

At the same time, many studies have been reported showing positive therapeutic effects due to the paracrine function of SCs in neurological diseases. Obviously, the future research will be done in this very direction.

Thus, extending the scope of CB application to treat various pathologies, including neurodegenerative diseases, will save and improve the life of millions of patients every year. However, further thorough, in-depth and well-funded research and advanced clinical trials are essential to realize this potential of CB.

Therapies for neurological diseases with use of CB or other SC sources are promising, but many studies are needed to ensure the availability of these cells and their widespread enrollment in clinical practice.

## References

1. Aidarova VS, Babiichuk VG, Kudokotseva OV, et al. Experimental substantiation of therapeutic hypothermia and cell therapy application at dyscirculatory encephalopathy in SHR Rats. Part 2. Structural changes in brain tissue. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2018; 29(1): 58–72.
2. Aidarova VS, Kudokotseva OV, Lomakin II, Babijchuk GA. Applications of cord blood cells in neurology. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2016; 26(2): 103–15.
3. Ali H, Bahbahani H. Umbilical cord blood stem cells – potential therapeutic tool for neural injuries and disorders. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2010; 70(3): 316–24.
4. Arien-Zakay H, Lazarovici P, Nagler A. Tissue regeneration potential in human umbilical cord blood. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2010; 23(2): 291–303.



мультипотентність, імунологічна наївність і відсутність етичних проблем їх отримання та використання. Крім того, з метою запобігання РТПГ трансплантація КК не вимагає суворого збігу за НЛА та імуносупресією.

Поряд з цим опубліковано багато робіт, які свідчать про обумовленість позитивних терапевтичних ефектів паракриною функцією СК при неврологічних захворюваннях. Очевидно, що у найближчому часі саме в цьому напрямку будуть проводитись дослідження.

Таким чином, розширення сфери застосування КК для лікування різних патологій, зокрема нейродегенеративних, дозволить щорічно рятувати та покращувати життя мільйонів пацієнтів. Однак для реалізації цього потенціалу КК важливе проведення подальших серйозних, глибоких і добре фінансованих досліджень та розширених клінічних випробувань.

Терапевтичні методи лікування неврологічних захворювань із використанням КК або інших джерел СК є перспективними, однак важливо провести багато досліджень для забезпечення доступності цих клітин та широкого використання у клінічній практиці.

## Література

1. Гулевский АК, Щенявский ИИ, Никольченко АЮ. Кордовая кровь и ее компоненты: биологические особенности, клиническое применение, хранение в криобанках. Харьков: ИД «Райдер»; 2017. 344 с.
2. Aidarova VS, Babichuk VG, Kudokotseva OV, et al. Experimental substantiation of therapeutic hypothermia and cell therapy application at dyscirculatory encephalopathy in SHR rats. Part 2. Structural changes in brain tissue. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2018; 29(1): 58–72.
3. Aidarova VS, Kudokotseva OV, Lomakin II, Babichuk GA. Applications of cord blood cells in neurology. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2016; 26(2): 103–15.
4. Ali H, Bahbahani H. Umbilical cord blood stem cells – potential therapeutic tool for neural injuries and disorders. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2010; 70(3): 316–24.
5. Arien-Zakay H, Lazarovici P, Nagler A. Tissue regeneration potential in human umbilical cord blood. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2010; 23(2): 291–303.
6. Arien-Zakay H, Lecht S, Bercu MM, et al. Interferon-gamma-induced neuronal differentiation of human umbilical cord blood-derived progenitors. *Leukemia.* 2009; 23: 1790–800.
7. Arien-Zakay H, Nagler A, Galski H, Lazarovici P. Neuronal conditioning medium and nerve growth factor induce neuronal differentiation of collagen-adherent progenitors derived from human umbilical cord blood. *J Mol Neurosci.* 2007; 32: 179–91.
8. Babichuk LA, Kudokotseva OV, Zubov PM, et al. Cord blood autobanks: cryopreservation and testing methods. *Problems of Cryobiology.* 2008; 18(4): 524–26.
9. Arien-Zakay H, Lecht S, Bercu MM, et al. Interferon-gamma-induced neuronal differentiation of human umbilical cord blood-derived progenitors. *Leukemia.* 2009; 23: 1790–800.
10. Arien-Zakay H, Nagler A, Galski H, Lazarovici P. Neuronal conditioning medium and nerve growth factor induce neuronal differentiation of collagen-adherent progenitors derived from human umbilical cord blood. *J Mol Neurosci.* 2007; 32:179–91.
11. Babichuk LA, Mykhailova OA, Ryazantsev, et al. Cryopreservation of cord blood nucleated cells using non-penetrating cryoprotectant PEO-1500. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2016; 26(1): 24–34.
12. Babichuk LA, Ryazantsev VV, Zubov PM, Timchenko OL. New methods for human cord blood cryopreservation under protection of non-penetrating cryoprotectant PEO-1500. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2005; 15(3): 556–60.
13. Bae SH, Kong TH, Lee HS, et al. Long-lasting paracrine effects of human cord blood cells on damaged neocortex in an animal model of cerebral palsy. *Cell Transplant.* 2012; 21(11): 2497–515.
14. Bakondi B, Shimada IS, Perry A, et al. CD133 identifies a human bone marrow stem/progenitor cell sub-population with a repertoire of secreted factors that protect against stroke. *Mol Ther.* 2009. 17: 1938–47.
15. Ballen K, Barker N, Stewart K, et al. Collection and preservation of cord blood for personal use. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008; 14: 356–63.
16. Battistella V, de Freitas GR, da Fonseca LMB, et al. Safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with nonacute ischemic stroke. *Regen Med.* 2011; 6: 45–52.
17. Borys RM, Gozhenko AI, Goltsev AN. Effect of treatment with cryopreserved fetal neuronal cells on prooxidant-antioxidant balance in rats with experimental cranio-skeletal injury. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2014; 24(1): 67–74.
18. Buzanska L, Machaj EK, Zablocka B, et al. Human cord blood-derived cells attain neuronal and glial features in vitro. *J Cell Sci.* 2002; 115: 2131–8.
19. Chen L, Zhang G, Khan AA, et al. Clinical efficacy and meta-analysis of stem cell therapies for patients with brain ischemia. *Stem Cells Int.* [Internet] 2016 Aug 31 [cited 2024 Jun 21]; 2016:6129579. Available from: <https://www.eneuro.org/content/5/5/ENEURO.0369-18.2018/tab-figures-data>
20. Chen R, Ende N. The potential for the use of mononuclear cells from human umbilical cord blood in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis in SOD1 mice. *J Med.* 2000; 31(1–2): 21–30.
21. Chez M, Lepage C, Parise C, et al. Safety and observations from a placebo-controlled, crossover study to assess use of autologous umbilical cord blood stem cells to improve symptoms in children with autism. *Stem Cells Transl Med.* 2018; 7(4): 333–41.
22. Broxmeyer HE, editor. *Cord blood: biology, transplantation, banking, and regulation.* Bethesda: AABB Press, 2011. 719 p.
23. Dalamagkas K, Tsintou M, Seifalian A, Seifalian AM. Translational regenerative therapies for chronic spinal cord injury. *Int J Mol Sci.* [Internet] 2018 Jun 15 [cited 2024 Jun 21]; 19(6): 1776. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms19061776>.
24. Detante O, Moisan A, Hommel M, Jaillard A. Controlled clinical trials of cell therapy in stroke: meta-analysis at six months after treatment. *Int J Stroke.* 2017; 12(7): 748–51.



9. Babijchuk LA, Mykhailova OA, Ryazantsev, et al. Cryopreservation of cord blood nucleated cells using non-penetrating cryoprotectant PEO-1500. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2016; 26(1): 24–34.
10. Babijchuk LA, Ryazantsev VV, Zubov PM, Timchenko OL. New methods for human cord blood cryopreservation under protection of non-penetrating cryoprotectant PEO-1500. *Problems of Cryobiology*. 2005; 15(3): 556–60.
11. Bae SH, Kong TH, Lee HS, et al. Long-lasting paracrine effects of human cord blood cells on damaged neocortex in an animal model of cerebral palsy. *Cell Transplant*. 2012; 21(11): 2497–515.
12. Bakondi B, Shimada IS, Perry A, et al. CD133 identifies a human bone marrow stem/progenitor cell sub-population with a repertoire of secreted factors that protect against stroke. *Mol Ther*. 2009. 17: 1938–47.
13. Ballen K, Barker N, Stewart K, et al. Collection and preservation of cord blood for personal use. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; 14: 356–63.
14. Battistella V, de Freitas GR, da Fonseca LMB, et al. Safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with nonacute ischemic stroke. *Regen Med*. 2011; 6: 45–52.
15. Borys RM, Gozhenko AI, Goltsev AN. Effect of treatment with cryopreserved fetal neuronal cells on prooxidant-antioxidant balance in rats with experimental cranio-skeletal injury. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2014; 24(1): 67–74.
16. Buzanska L, Machaj EK, Zablocka B, et al. Human cord blood-derived cells attain neuronal and glial features in vitro. *J Cell Sci*. 2002; 115: 2131–8.
17. Chen L, Zhang G, Khan AA, et al. Clinical efficacy and meta-analysis of stem cell therapies for patients with brain ischemia. *Stem Cells Int*. [Internet] 2016 Aug 31 [cited 2024 Jun 21]; 2016:6129579. Available from: <https://www.eneuro.org/content/5/5/ENEURO.0369-18.2018/tab-figures-data>
18. Chen R, Ende N. The potential for the use of mononuclear cells from human umbilical cord blood in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis in SOD1 mice. *J Med*. 2000; 31(1–2): 21–30.
19. Chez M, Lepage C, Parise C, et al. Safety and observations from a placebo-controlled, crossover study to assess use of autologous umbilical cord blood stem cells to improve symptoms in children with autism. *Stem Cells Transl Med*. 2018; 7(4): 333–41.
20. Broxmeyer HE, editor. *Cord blood: biology, transplantation, banking, and regulation*. Bethesda: AABB Press; 2011. 719 p.
21. Dalamagkas K, Tsintou M, Seifalian A, Seifalian AM. Translational regenerative therapies for chronic spinal cord injury. *Int J Mol Sci*. [Internet] 2018 Jun 15 [cited 2024 Jun 21]; 19(6):1776. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/6/1776>
22. Detante O, Moisan A, Hommel M, Jaillard A. Controlled clinical trials of cell therapy in stroke: meta-analysis at six months after treatment. *Int J Stroke*. 2017; 12(7): 748–51.
23. Ende N, Weinstein F, Chen R, Ende M. Human umbilical cord blood effect on SOD mice (amyotrophic lateral sclerosis). *Life Sci*. 2000; 67(1): 53–9.
24. Escolar ML, Poe MD, Provenzale JM, et al. Transplantation of umbilical-cord blood in babies with infantile Krabbe's disease. *N Engl J Med*. 2005; 352(20): 2069–81.
25. Feng M, Lu A, Gao H, Qian C, et al. Safety of allogeneic umbilical cord blood stem cells therapy in patients with severe cerebral palsy: a retrospective study. *Stem Cells Int*. [Internet] 2015 Jul 8 [cited 2024 Jun 21]; 2015:325652. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2015/325652/>
26. Garbuzova-Davis S, Sanberg CD, Kuzmin-Nichols N, et al. Human umbilical cord blood treatment in a mouse model of ALS: optimization of cell dose. *PLoS One*. [Internet] 2008 Jun 25 [cited 2024 Jun 21]; 3(6): e2494. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002494>
27. Garbuzova-Davis S, Willing AE, Milliken M, et al. Positive effect of transplantation of hNT neurons (Ntera 2/D1 cell line) in a model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol*. 2002; 174(2): 169–80.
28. Goltsev A, Kalynychenko T. Umbilical cord blood stem cells: clinical application of allogeneic material, problems and perspectives of banking. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2020; 30(3): 213–35.
29. Goltsev A, Lutsenko O, Ostankova L, et al. Modern approaches and perspectives of human cord blood nucleated cells' freeze-drying. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2024; 33(4): 227–49.
30. Goltsev AN, Volina VV, Sokol LV, et al. Effect of hypothermic storage and cryopreservation on human cord blood leucocyte concentrate cells. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2010; 20(3): 303–8.
31. Grischenko VI, Goltsev AN. Transplantation of the products of embryofetoplacental complex. From understanding of mechanism of the effect to increasing the efficiency of application. *Problems of Cryobiology* 2002; (1): 54–84.
32. Gulevsky AK, Shenyavsky II, Nikolchenko AYU. [Cord blood and its components: biological features, clinical application, storage at cryobanks]. Kharkiv: Rider; 2017. 344 p. Russian.
33. Ha Y, Choi JU, Yoon DH, et al. Neural phenotype expression of cultured human cord blood cells in vitro. *Neuroreport*. 2001; 12: 3523–7.
34. Habich A, Jurga M, Markiewicz I, et al. Early appearance of stem/progenitor cells with neural-like characteristics in human cord blood mononuclear fraction cultured in vitro. *Exp Hematol*. 2006; 34: 914–25.
35. Hamblin MH, Lee JP. Neural stem cells for early ischemic stroke. *International journal of molecular sciences*. [Internet] 2021 Jul 19 [Cited 2024 Jun 21]; 22(14): 7703. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/14/7703>
36. Han H, Chang SK, Chang JJ, et al. Intrathecal injection of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for the treatment of basilar artery dissection: a case report. *J Med Case Rep*. [Internet] 2011 Dec 4 [Cited 2024 Jun 21]; 5:562. Available from: <https://jmedicalcasereports.biomedcentral.com/articles/10.1186/1752-1947-5-562>.
37. Harris DT. Cord blood stem cells: A review of potential neurological applications. *Stem Cell Rev*. 2008; 4: 269–74.
38. Hess DC, Wechsler LR, Clark WM, et al. 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; 16: 360–8.
39. Honmou O. Phase III clinical trial using autologous mesenchymal stem cells for stroke patients. *Nihon Rinsho*. 2016; 74(4): 649–54.
40. Ende N, Weinstein F, Chen R, Ende M. Human umbilical cord blood effect on SOD mice (amyotrophic lateral sclerosis). *Life Sci*. 2000; 67(1): 53–9.
41. Escolar ML, Poe MD, Provenzale JM, et al. Transplantation of umbilical-cord blood in babies with infantile Krabbe's disease. *N Engl J Med*. 2005; 352(20): 2069–81.
42. Feng M, Lu A, Gao H, Qian C, et al. Safety of allogeneic umbilical cord blood stem cells therapy in patients with severe cerebral palsy: a retrospective study. *Stem Cells Int*. [Internet] 2015 Jul 8 [cited 2024 Jun 21]; 2015:325652. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2015/325652/>
43. Garbuzova-Davis S, Sanberg CD, Kuzmin-Nichols N, et al. Human umbilical cord blood treatment in a mouse model of ALS: optimization of cell dose. *PLoS One*. [Internet] 2008 Jun 25 [cited 2024 Jun 21]; 3(6): e2494. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002494>
44. Garbuzova-Davis S, Willing AE, Milliken M, et al. Positive effect of transplantation of hNT neurons (Ntera 2/D1 cell line) in a model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol*. 2002; 174(2): 169–80.
45. Goltsev A, Kalynychenko T. Umbilical cord blood stem cells: clinical application of allogeneic material, problems and perspectives of banking. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2020; 30(3): 213–35.
46. Goltsev A, Lutsenko O, Ostankova L, et al. Modern approaches and perspectives of human cord blood nucleated cells' freeze-drying. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2024; 33(4): 227–49.
47. Goltsev AN, Volina VV, Sokol LV, et al. Effect of hypothermic storage and cryopreservation on human cord blood leucocyte concentrate cells. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2010; 20(3): 303–8.
48. Grischenko VI, Goltsev AN. Transplantation of the products of embryofetoplacental complex. From understanding of mechanism of the effect to increasing the efficiency of application. *Problems of Cryobiology* 2002; (1): 54–84.
49. Gulevsky AK, Shenyavsky II, Nikolchenko AYU. [Cord blood and its components: biological features, clinical application, storage at cryobanks]. Kharkiv: Rider; 2017. 344 p. Russian.
50. Ha Y, Choi JU, Yoon DH, et al. Neural phenotype expression of cultured human cord blood cells in vitro. *Neuroreport*. 2001; 12: 3523–7.
51. Habich A, Jurga M, Markiewicz I, et al. Early appearance of stem/progenitor cells with neural-like characteristics in human cord blood mononuclear fraction cultured in vitro. *Exp Hematol*. 2006; 34: 914–25.
52. Hamblin MH, Lee JP. Neural stem cells for early ischemic stroke. *International journal of molecular sciences*. [Internet] 2021 Jul 19 [Cited 2024 Jun 21]; 22(14): 7703. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/14/7703>
53. Han H, Chang SK, Chang JJ, et al. Intrathecal injection of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for the treatment of basilar artery dissection: a case report. *J Med Case Rep*. [Internet] 2011 Dec 4 [Cited 2024 Jun 21]; 5:562. Available from: <https://jmedicalcasereports.biomedcentral.com/articles/10.1186/1752-1947-5-562>.
54. Harris DT. Cord blood stem cells: A review of potential neurological applications. *Stem Cell Rev*. 2008; 4: 269–74.
55. Hess DC, Wechsler LR, Clark WM, et al. 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; 16: 360–8.
56. Honmou O. Phase III clinical trial using autologous mesenchymal stem cells for stroke patients. *Nihon Rinsho*. 2016; 74(4): 649–54.





- effect of transplantation of hNT Neurons (Ntera 2/D1 cellline) in a model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol*. 2002; 174(2): 169–80.
28. Goltsev A, Kalynychenko T. Umbilical cord blood stem cells: clinical application of allogeneic material, problems and perspectives of banking. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2020; 30(3): 213–35.
  29. Goltsev A, Lutsenko O, Ostankova L, et al. Modern approaches and perspectives of human cord blood nucleated cells' freeze-drying. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2023; 33(4), 227–49.
  30. Goltsev AN, Volina VV, Sokol LV, et al. Effect of hypothermic storage and cryopreservation on human cord blood leucoconcentrate cells. *Problems of Cryobiology*. 2010; 20(3): 303–8.
  31. Grischenko VI, Goltsev AN. Transplantation of the products of embryofetoplacental complex. From understanding of mechanism of the effect to increasing the efficiency of application. *Problems of Cryobiology*, 2002; (1): 54–84.
  32. Ha Y, Choi JU, Yoon DH, et al. Neural phenotype expression of cultured human cord blood cells *in vitro*. *Neuroreport*. 2001; 12:3523–7.
  33. Habich A, Jurga M, Markiewicz I, et al. Early appearance of stem/progenitor cells with neural-like characteristics in human cord blood mononuclear fraction cultured *in vitro*. *Exp. Hematol*. 2006; 34: 914–25.
  34. Hamblin MH, Lee JP. Neural stem cells for early ischemic stroke. *International journal of molecular sciences*. [Internet] 2021 Jul 19 [Cited 2024 Jun 21]; 22(14): 7703. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/14/7703>
  35. Han H, Chang SK, Chang JJ, et al. Intrathecal injection of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells for the treatment of basilar artery dissection: a case report. *J Med Case Rep*. [Internet] 2011 Dec 4 [Cited 2024 Jun 21]; 5: 562. Available from: <https://jmedicalcasereports.biomedcentral.com/articles/10.1186/1752-1947-5-562>
  36. Harris DT. Cord blood stem cells: A review of potential neurological applications. *Stem Cell Rev*. 2008; 4: 269–74.
  37. Hess DC, Wechsler LR, Clark WM, et al. 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; 16: 360–8.
  38. Honmou O. Phase III clinical trial using autologous mesenchymal stem cells for stroke patients. *Nihon rinsho*. 2016; 74(4): 649–54.
  39. Huang L, Zhang C, Gu J, et al. A randomized, placebo-controlled trial of human umbilical cord blood mesenchymal stem cell infusion for children with cerebral palsy. *Cell Transplant*. 2018; 27(2): 325–34.
  40. Jahan S, Kumar D, Kumar A, et al. Neurotrophic factor mediated neuronal differentiation of human cord blood mesenchymal stem cells and their applicability to assess the developmental neurotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 482: 961–7.
  41. Jang YK, Park JJ, Lee MC, et al. Retinoic acid-mediated induction of neurons and glial cells from human umbilical cord-derived hematopoietic stem cells. *J Neurosci Res*. 2004; 75: 573–84.
  42. Jeong JA, Gang EJ, Hong SH, et al. Rapid neural differentiation of human cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Neuroreport*. 2004; 15: 1731–4.
  43. Jin HJ, Bae YK, Kim M, et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *Int J Mol Sci*. [Internet] 2013 Sep 3 [Cited 2024 Jun 21]; 14(9): 17986–8001. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/14/9/17986>.
  44. Kalladka D, Sinden J, Pollock K, et al. Human neural stem cells in patients with chronic ischaemic stroke (PISCES): a phase 1, first-in-man study. *Lancet*. 2016; 388: 787–96.
  45. Kim DH, Lee D, Chang EH, et al. GDF-15 secreted from human umbilical cord blood mesenchymal stem cells delivered through the cerebrospinal fluid promotes hippocampal neurogenesis and synaptic activity in an Alzheimer's disease model. *Stem Cells Dev*. 2015; 24(20): 2378–90.
  46. Kim DH, Lee D, Lim H, et al. Effect of growth differentiation factor-15 secreted by human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on amyloid beta levels in *in vitro* and *in vivo* models of Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 504(4): 933–40.
  47. Kou M, Huang L, Yang J, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: a next generation therapeutic tool? *Cell Death Dis*. [Internet] 2022 Jul 4 [Cited 2024 Jun 21]; 13(7): 580. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41419-022-05034-x>.
  48. Laskowitz DT, Bennett ER, Durham RJ, et al. Allogeneic umbilical cord blood infusion for adults with ischemic stroke: clinical outcomes from a phase I safety study. *Stem Cells Transl. Med*. 2018; 7(7): 521–9.
  49. Lebedinets DV, Goltsev AN. Cryopreserved embryonic nerve cells in therapy of ischemic insult acute period. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2008; 18(1): 27–33.
  50. Lebedinets V, Ostankova L, Bondarovich M, et al. Lyophilized human cord blood leucoconcentrate to treat brain ischemia in rats. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2022; 32(1): 44–57.
  51. Lebedinets DV, Ovsyannikov SY, Lebedinets VV, et al. Therapy with fetal neuronal cells in acute period of experimental ischemic stroke (antioxidative effect). *Probl Cryobiol Cryomedicine*. 2010; 20(3): 338–347.
  52. Lee JS, Hong JM, Moon GJ, et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells*. 2010; 28:1099–106.
  53. Li Q, Chen CF, Wang DY, et al. Changes in growth factor levels in the cerebrospinal fluid of autism patients after transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Genet Mol Res*. 2016; 15(2): 1–6.
  54. Liu D, Bobrovskaya L, Zhou XF. Cell therapy for neurological disorders: the perspective of promising cells. *Biology*



- the cerebrospinal fluid promotes hippocampal neurogenesis and synaptic activity in an Alzheimer's disease model. *Stem Cells Dev.* 2015; 24(20): 2378–90.
46. Kim DH, Lee D, Lim H, et al. Effect of growth differentiation factor-15 secreted by human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on amyloid beta levels in in vitro and in vivo models of Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018; 504(4): 933–40.
  47. Kou M, Huang L, Yang J, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: a next generation therapeutic tool? *Cell Death Dis.* [Internet] 2022 Jul 4 [Cited 2024 Jun 21]; 13(7): 580. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41419-022-05034-x>
  48. Laskowitz DT, Bennett ER, Durham RJ, et al. Allogeneic umbilical cord blood infusion for adults with ischemic stroke: clinical outcomes from a phase I safety study. *Stem Cells Transl. Med.* 2018; 7(7): 521–9.
  49. Lebedinets DV, Goltsev AN. Cryopreserved embryonic nerve cells in therapy of ischemic insult acute period. *Problems of Cryobiology.* 2008; 18(1): 27–33.
  50. Lebedinets V, Ostankova L, Bondarovich M, et al. Lyophilized human cord blood leukoconcentrate to treat brain ischemia in rats. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2022; 32(1): 44–57.
  51. Lebedinets DV, Ovsyannikov SY, Lebedinets VV, et al. Therapy with fetal neuronal cells in acute period of experimental ischemic stroke (antioxidative effect). *Problems of Cryobiology.* 2010; 20(3): 338–47.
  52. Lee JS, Hong JM, Moon GJ, Lee PH, et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells.* 2010; 28:1099–106.
  53. Li Q, Chen CF, Wang DY, et al. Changes in growth factor levels in the cerebrospinal fluid of autism patients after transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Genet Mol Res.* 2016; 15(2):1–6.
  54. Liu D, Bobrovskaya L, Zhou XF. Cell therapy for neurological disorders: the perspective of promising cells. *Biology (Basel).* [Internet] 2021 Nov 6 [Cited 2024 Jun 21]; 10(11):1142. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-7737/10/11/1142>
  55. Luan Z, Qu S, Du K, et al. Neural stem/progenitor cell transplantation for cortical visual impairment in neonatal brain injured patients. *Cell Transplant.* 2013; 22:101–12.
  56. Lychko VS, Malakhov VO, Sukach OM. Effect of cryopreserved cord blood serum on reparation processes in rat brain tissue with acute focal cerebral ischemia. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2019; 29(3):277–90.
  57. Lyu H, Sun DM, Ng CP, et al. Umbilical cord blood mononuclear cell treatment for neonatal rats with hypoxic ischemia. *Front Cell Neurosci.* [Internet] 2022 Mar 2 [cited 2024 Jun 21]; 16: 823320. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2022.823320/full>
  58. Makashova OE, Babijchuk LO, Zubova OL, Zubov PM. Optimization of cryopreservation technique for human cord blood nucleated cells using combination of cryoprotectant DMSO and antioxidant N-acetyl-L-cysteine. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2016; 26(4): 295–307.
  59. Makashova O, Mykhailova O, Zubova O, et al. Glutathione antioxidant increases resistance of cord blood nucleated cells during cryopreservation with dimethyl sulfoxide. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2020; 30(1), 58–67.
  60. McGuckin C, Forraz N, Baradez M, et al. Embryonic-like stem cells from umbilical cord blood and potential for neural modeling. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2006; 66:321–9.
  61. Min K, Suh MR, Cho KH, et al. Potentiation of cord blood cell therapy with erythropoietin for children with CP: a 2 × 2 factorial randomized placebo-controlled trial. *Stem Cell Res Ther.* [Internet] 2020 Nov 27 [cited 2024 Jun 21]; 11(1): 509. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-020-02020-y>
  - (Basel). [Internet] 2021 Nov 6 [Cited 2024 Jun 21]; 10(11): 1142. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-7737/10/11/1142>.
  55. Luan Z, Qu S, Du K, et al. Neural stem/progenitor cell transplantation for cortical visual impairment in neonatal brain injured patients. *Cell Transplant.* 2013; 22: 101–12.
  56. Lychko VS, Malakhov VO, Sukach OM. Effect of cryopreserved cord blood serum on reparation processes in rat brain tissue with acute focal cerebral ischemia. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2019; 29(3): 277–90.
  57. Lyu H, Sun DM, Ng CP, et al. Umbilical cord blood mononuclear cell treatment for neonatal rats with hypoxic ischemia. *Front Cell Neurosci.* [Internet] 2022 Mar 2 [cited 2024 Jun 21]; 16: 823320. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2022.823320/full>
  58. Makashova OE, Babijchuk LO, Zubova OL, Zubov PM. Optimization of cryopreservation technique for human cord blood nucleated cells using combination of cryoprotectant DMSO and antioxidant N-acetyl-L-cysteine. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2016; 26(4): 295–307.
  59. Makashova O, Mykhailova O, Zubova O, et al. Glutathione antioxidant increases resistance of cord blood nucleated cells during cryopreservation with dimethyl sulfoxide. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2020; 30(1), 58–67.
  60. McGuckin C, Forraz N, Baradez M, et al. Embryonic-like stem cells from umbilical cord blood and potential for neural modeling. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2006; 66:321–9.
  61. Min K, Suh MR, Cho KH, et al. Potentiation of cord blood cell therapy with erythropoietin for children with CP: a 2 × 2 factorial randomized placebo-controlled trial. *Stem Cell Res Ther.* [Internet] 2020 Nov 27 [cited 2024 Jun 21]; 11(1): 509. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-020-02020-y>
  62. Mochizuki K, Kikuta A, Ito M, et al. Successful unrelated cord blood transplantation for chronic granulomatous disease: A case report and review of the literature. *Pediatr Transplant.* 2008; 13: 384–9.
  63. Moniche F, Rosado-de-Castro PH, Escudero I, et al. Increasing dose of autologous bone marrow mononuclear cells transplantation is related to stroke outcome: results from a pooled analysis of two clinical trials. *Stem Cells Int.* [Internet] 2016 Jul 21 [cited 2024 Jun 21]; 2016:8657173. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2016/8657173>.
  64. Muir KW. Clinical trial design for stem cell therapies in stroke: what have we learned? *Neurochem Int.* 2017; 106: 108–13.
  65. Nagpal A, Kremer KL, Hamilton-Bruce MA, et al. TOOTH (the open study of dental pulp stem cell therapy in humans): study protocol for evaluating safety and feasibility of autologous human adult dental pulp stem cell therapy in patients with chronic disability after stroke. *Int J Stroke.* 2016; 11: 575–85.
  66. Nie L, Yao D, Chen S, et al. Directional induction of neural stem cells, a new therapy for neurodegenerative diseases and ischemic stroke. *Cell Death Discovery.* 2023; 9(1): 215.
  67. Nikolic WV, Hou H, Town T, et al. Peripherally administered human umbilical cord blood cells reduce parenchymal and vascular beta-amyloid deposits in Alzheimer mice. *Stem Cells Dev.* 2008; 17(3): 423–39.
  68. Pipes B, Tsang T, Peng S, et al. Telomere length changes after umbilical cord blood transplant. *Transfusion.* 2006; 46: 1038–43.
  69. Pischiutta F, Caruso E, Lugo A, et al. Systematic review and meta-analysis of preclinical studies testing mesenchymal stromal cells for traumatic brain injury. *NPJ Regen Med.* [Internet] 2021 Oct 29 [cited 2024 Jun 21]; 6(1): 71. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41536-021-00182-86>.



62. Mochizuki K, Kikuta A, Ito M, et al. Successful unrelated cord blood transplantation for chronic granulomatous disease: A case report and review of the literature. *Pediatr Transplant.* 2008; 13: 384–9.
63. Moniche F, Rosado-de-Castro PH, Escudero I, et al. Increasing dose of autologous bone marrow mononuclear cells transplantation is related to stroke outcome: results from a pooled analysis of two clinical trials. *Stem Cells Int.* [Internet] 2016 Jul 21 [cited 2024 Jun 21]; 2016:8657173. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2016/8657173>.
64. Muir KW. Clinical trial design for stem cell therapies in stroke: what have we learned? *Neurochem Int.* 2017; 106: 108–13.
65. Nagpal A, Kremer KL, Hamilton-Bruce MA, et al. TOOTH (the open study of dental pulp stem cell therapy in humans): study protocol for evaluating safety and feasibility of autologous human adult dental pulp stem cell therapy in patients with chronic disability after stroke. *Int J Stroke.* 2016; 11: 575–85.
66. Nie L, Yao D, Chen S, et al. Directional induction of neural stem cells, a new therapy for neurodegenerative diseases and ischemic stroke. *Cell Death Discovery.* 2023 Jul 01 [cited 2024 Jun 21]; 9(1): 215. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41420-023-01532-9>
67. Nikolic WV, Hou H, Town T, et al. Peripherally administered human umbilical cord blood cells reduce parenchymal and vascular beta-amyloid deposits in Alzheimer mice. *Stem Cells Dev.* 2008; 17(3): 423–39.
68. Pipes B, Tsang T, Peng S, et al. Telomere length changes after umbilical cord blood transplant. *Transfusion.* 2006; 46: 1038–43.
69. Pischitta F, Caruso E, Lugo A, et al. Systematic review and meta-analysis of preclinical studies testing mesenchymal stromal cells for traumatic brain injury. *NPJ Regen Med.* [Internet] 2021 Oct 29 [cited 2024 Jun 21]; 6(1): 71. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41536-021-00182-86>
70. 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 Transplant.* 2014; 23: S65–S72.
71. Rafieemehr H, Kheyrandish M, Soleimani M. Neuroprotective effects of transplanted mesenchymal stromal cells-derived human umbilical cord blood neural progenitor cells in EAE. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2015; 14: 596–604.
72. Ringden O, Okas M, Uhlin M, et al. Unrelated cord blood and mismatched unrelated volunteer donor transplants, two alternatives in patients who lack an HLA-identical donor. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42: 643–8.
73. Rogers I, Yamanaka N, Bielecki R, et al. Identification and analysis of in vitro cultured CD45-positive cells capable of multi-lineage differentiation. *Exp Cell Res.* 2007; 313: 1839–52.
74. Rumajogee P, Altamentova S, Li L, et al. Exogenous neural precursor cell transplantation results in structural and functional recovery in a hypoxic–ischemic hemiplegic mouse model. *eNeuro.* [Internet] 2018 Dec 4 [Cited 2024 Jun 21]; 5(5): eNEURO.0369-18.2018. Available from: <https://www.eneuro.org/content/5/5/ENEURO.0369-18.2018.long>.
75. Ryazantsev VV, Babichuk LA, Zubova OL, Gurina TM. Cord blood cryopreservation with PEO-1500. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2007; 17(3): 256–62.
76. Sanchez-Ramos JR, Song S, Kamath SG, et al. Expression of neural markers in human umbilical cord blood. *Exp Neurol.* 2001; 171: 109–15.
77. Slatter M, Gennery A. Umbilical cord stem cell transplantation for primary immunodeficiencies. *Expert Opin Biol Ther.* 2006; 6: 555–65.
78. Staba SL, Escolar ML, Poe M, et al. Cord-blood transplants from unrelated donors in patients with Hurler’s syndrome. *N Engl J Med.* 2004; 350(19): 1960–9.
79. Steinberg GK, Kondziolka D, Wechsler LR, et al. Clinical outcomes of transplanted modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells in stroke: a phase 1/2a study. *Stroke.* 2016. 47(7): 1817–24.
80. Sun JM, Song AW, Case LE, et al. Effect of autologous cord blood infusion on motor function and brain connectivity in young children with cerebral palsy: a randomized, placebo-controlled trial. *Stem Cells Transl Med.* 2017; 6(12): 2071–8.
81. Sun W, Buzanska L, Domanska-Janik K, et al. Voltage-sensitive and ligand-gated channels in differentiating neural stem-like cells derived from the nonhematopoietic fraction of human umbilical cord blood. *Stem Cells.* 2005; 23: 931–45.
82. Taguchi A. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest.* 2004; 114(3): 330–8.
83. Tan F, Li X, Wang Z, Li J, Shahzad K, Zheng J. Clinical applications of stem cell-derived exosomes. *Signal Transduct Target Ther.* [Internet] 2024 Jan 12 [Cited 2024 Jun 21]; 9(1): 17. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41392-023-01704-0>.
84. Tang H, Li Y, Tang W, et al. Endogenous neural stem cell-induced neurogenesis after ischemic stroke: processes for brain repair and perspectives. *Transl Stroke Res.* 2023; 14(3): 297–303.
85. Tracy ET, Zhang CY, Gentry T, et al. Isolation and expansion of oligodendrocyte progenitor cells from cryopreserved human umbilical cord blood. *Cytotherapy.* 2011; 13(6): 722–9.
86. Tsuji M, Sawada M, Watabe S, et al. Autologous cord blood cell therapy for neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy: a pilot study for feasibility and safety. *Sci Rep.* [Internet]



80. Sun JM, Song AW, Case LE, et al. Effect of autologous cord blood infusion on motor function and brain connectivity in young children with cerebral palsy: a randomized, placebo-controlled trial. *Stem Cells Transl Med.* 2017; 6(12): 2071–8.
81. Sun W, Buzanska L, Domanska-Janik K, et al. Voltage-sensitive and ligand-gated channels in differentiating neural stem-like cells derived from the nonhematopoietic fraction of human umbilical cord blood. *Stem Cells.* 2005; 23: 931–45.
82. Taguchi A. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest.* 2004; 114(3): 330–8.
83. Tan F, Li X, Wang Z, et al. Clinical applications of stem cell-derived exosomes. *Signal Transduct Target Ther.* [Internet] 2024 Jan 12 [cited 2024 Jun 21]; 9(1):17. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41392-023-01704-0>
84. Tang H, Li Y, Tang W, et al. Endogenous neural stem cell-induced neurogenesis after ischemic stroke: processes for brain repair and perspectives. *Transl Stroke Res.* 2023; 14(3): 297–303.
85. Tracy ET, Zhang CY, Gentry T, et al. Isolation and expansion of oligodendrocyte progenitor cells from cryopreserved human umbilical cord blood. *Cytotherapy.* 2011; 13(6): 722–9.
86. Tsuji M, Sawada M, Watabe S, et al. Autologous cord blood cell therapy for neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy: a pilot study for feasibility and safety. *Sci Rep.* [Internet] 2020 Mar 12 [cited 2024 Jun 21]; 10(1): 4603. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-61311-9>
87. Volkova N, Vvedensky D, Yukhta M, Goltsev A. Influence of cryopreservation on phenotype and functional properties of multipotent mesenchymal stromal cells derived from different sources. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2021; 31(3): 268–72.
88. Vyas R, Dudhat D, Navik P, et al. Clinical safety in using unmatched allogeneic umbilical cord blood mononuclear cells transplantations in non-haematopoietic degenerative conditions. *J Stem Cells.* 2014; 9(4): 219–24.
89. Wang S, He Q, Qu Y, et al. Emerging strategies for nerve repair and regeneration in ischemic stroke: neural stem cell therapy. *Neural Regen Res.* 2024; 19(11): 2430–43.
90. Watt S, Contreras M. Stem cell medicine: umbilical cord blood and its stem cell potential. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2005; 10: 209–20.
91. Willing AE, Garbuzova-Davis S, Saporta S, et al. HNT neurons delay onset of motor deficit in a model of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res Bull.* 2001; 56(6): 525–30.
92. Yang B, Migliati E, Parsha K, et al. Intra-arterial delivery is not superior to intravenous delivery of autologous bone marrow mononuclear cells in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2013; 44: 3463–72.
93. Yang WZ, Shu GJ, Zhang Y, et al. Human cord blood-derived mononuclear cell transplantation for viral encephalitis-associated cognitive impairment: a case report. *J Med Case Rep.* [Internet] 2013 Jul 8 [cited 2024 Jun 21]; 7: 181. Available from: <https://jmedicalcasereports.biomedcentral.com/articles/10.1186/1752-1947-7-181>.
94. Yang WZ, Zhang Y, Wu F, et al. Human umbilical cord blood-derived mononuclear cell transplantation: case series of 30 subjects with hereditary ataxia. *J Transl Med.* 2011; 9(65): 1–5.
95. Yang WZ, Zhang Y, Wu F, et al. Safety evaluation of allogeneic umbilical cord blood mononuclear cell therapy for degenerative conditions. *J Transl Med.* [Internet] 2010 Aug 3 [cited 2024 Jun 21]; 8: 75. Available from: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-8-75>.
96. Yao L, He C, Zhao Y, Wang J, et al. Human umbilical cord blood stem cell transplantation for the treatment of chronic spinal cord injury: Electrophysiological changes and long-term efficacy. *Neural Regen Res.* 2013; 8(5): 397–403.
97. Yoo Y, Neumayer G, Shibuya Y, et al. A cell therapy approach to restore microglial Trem2 function in a mouse model of Alzheimer's disease. *Cell Stem Cell.* 2023; 30(8): 1043–53. e6.
98. Yousef B, Sanooghi D, Faghihi F, et al. Evaluation of motor neuron differentiation potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells, in vitro. *J Chem Neuroanat.* 2017; 81: 18–26.
99. Zhou L, McDonald C, Yawno T, et al. Umbilical cord blood and cord tissue-derived cell therapies for neonatal morbidities: current status and future challenges. *Stem Cells Transl Med.* 2022; 11(2): 135–45.
100. Zhu H, Poon W, Liu Y, et al. Phase I-II clinical trial assessing safety and efficacy of umbilical cord blood mononuclear cell transplant therapy of chronic complete spinal cord injury. *Cell Transplant.* 2016. 25(11): 1925–43.
101. Zolotko K, Sukach O, Kompaniets A, Piriatska N. Impact of combined administration of cryopreserved mesenchymal stem cells and neural cell aggregates on recovery of motor activity in rats with intracerebral hemorrhage. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2020; 30(2): 169–77.
102. Zubova OL, Zubov PM, Babijchuk LA, Ryazantsev VV. Cryopreservation of whole cord blood. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2008; 18(1): 58–61.



- neuron differentiation potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells, *in vitro*. *J Chem Neuroanat*. 2017; 81: 18–26.
99. Zhou L, McDonald C, Yawno T, et al. Umbilical cord blood and cord tissue-derived cell therapies for neonatal morbidities: current status and future challenges. *Stem Cells Transl Med*. 2022; 11(2): 135–45.
100. Zhu H, Poon W, Liu Y, et al. Phase I–II clinical trial assessing safety and efficacy of umbilical cord blood mononuclear cell transplant therapy of chronic complete spinal cord injury. *Cell Transplant*. 2016. 25(11): 1925–43.
101. Zolotko K, Sukach O, Kompaniets A, Piriatska N. Impact of combined administration of cryopreserved mesenchymal stem cells and neural cell aggregates on recovery of motor activity in rats with intracerebral hemorrhage. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2020; 30(2): 169–77.
102. Zubova OL, Zubov PM, Babijchuk LA, Ryazantsev VV. Cryopreservation of whole cord blood. *Problems of Cryobiology*. 2008; 18(1): 58–61.
103. Zubov P, Zubova O, Babijchuk L. Trolox antioxidant as a factor in stabilization of human cord blood nucleated cells during cryopreservation. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2023; 33(2): 122–32.

