

**Ф.В. Гладких^{1,2,3}, І.В. Кошурба^{3,4}, М.О. Чиж²,
Жученко П.С.⁵, Ю.В. Кошурба⁴**

Безклітинні біологічні засоби: нові горизонти у лікуванні передчасно народжених дітей (огляд літератури)

¹Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків

²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

³Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, м. Харків

⁴Комунальне некомерційне підприємство «Чернівецький обласний перинатальний центр», Україна

⁵Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України, Україна

Modern Pediatrics. Ukraine. (2023). 8(136): 86-93. doi 10.15574/SP.2023.136.86

For citation: Hladkykh FV, Koshurba IV, Chyzh MO, Zhuchenko PS, Koshurba YuV. (2023). Cell-free biological agents: new horizons in the treatment of premature newborns (literature review). Modern Pediatrics. Ukraine. 8(136): 86-93. doi 10.15574/SP.2023.136.86.

Актуальність. Передчасні пологи є складним синдромом і залишаються серйозною глобальною проблемою охорони здоров'я. Беручи до уваги пластичність та регенеративний потенціал органів, що розвиваються, найперспективнішою терапевтичною стратегією на сьогодні є застосування мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) та їх похідних.

Мета: узагальнити сучасні відомості про терапевтичний потенціал безклітинних біологічних засобів у лікуванні передчасно народжених дітей за даними відкритих джерел інформації.

Здійснено підбір публікацій, у яких висвітлювались відомості про застосування кондиціонованих середовищ та екзосом МСК у лікуванні передчасно народжених дітей. Порівняно із МСК, використання безклітинних засобів має переваги: застосування секретому нівелює ризики, потенційно пов'язані із трансплантацією живих і проліферативних популяцій клітин, зокрема імунні сумісність, пухлиногенність, утворення емболів і передача інфекцій; секретом, отриманий з МСК, можна оцінити на безпечність, дозування та ефективність у спосіб, аналогічний звичайним фармацевтичним агентам; зберігання можна здійснювати без застосування потенційно токсичних кріоконсервантів протягом тривалого періоду без втрати ефективності продукту; використання секретому з МСК, такого як кондиціонованого МСК середовища, є економічнішим і практичнішим для клінічного застосування, оскільки воно дозволяє уникнути інвазивних процедур збору клітин; можливе масове виробництво за допомогою спеціально виготовлених клітинних ліній у контрольованих лабораторних умовах, забезпечуючи зручне джерело біоактивних факторів; час і вартість розширення та підтримки культивованих стовбурових клітин можуть бути значно скорочені, а готові секретоми можуть бути негайно доступні для лікування гострих станів; біологічний продукт, отриманий для терапевтичного застосування, може бути модифікований до очікуваних клітинно-специфічних ефектів.

Висновки. Лікування передчасно народжених дітей є унікальним клінічним завданням, оскільки їхні захворювання охоплюють динамічні фізіологічні процеси в незрілих органах, що розвиваються. Впровадження у клінічне застосування безклітинних біологічних засобів є одним з найперспективніших напрямків розвитку неонатології та вочевидь змінять парадигми в лікуванні цілої низки захворювань новонароджених, зокрема бронхолегеневої дисплазії, гіпоксичної ішемічної енцефалопатії та некротичного ентероколіту. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Ключові слова: мезенхімальні стовбурові клітини, екзосоми, кондиціоновані середовища, новонароджені, бронхолегенева дисплазія, гіпоксично-ішемічна енцефалопатія, некротичний ентероколіт.

Cell-free biological agents: new horizons in the treatment of premature newborns (literature review)

F.V. Hladkykh^{1,2,3}, I.V. Koshurba^{3,4}, M.O. Chyzh³, P.S. Zhuchenko⁵, Yu.V. Koshurba⁴

¹State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv,

²V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Ukraine

³Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

⁴Communal non-profit enterprise «Chernivtsi Regional Perinatal Center», Ukraine

⁵Vinnitsya National Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Vinnitsya, Ukraine

Background. Preterm birth, is a complex syndrome and remains a major global health problem. Taking into account the plasticity and regenerative potential of developing organs, nowadays the most promising therapeutic strategy is the use of mesenchymal stem cells (MSCs) and their derivatives.

Aim. To summarize current information about the therapeutic potential of cell-free biological agents in the treatment of diseases of premature newborns according to data from open sources of information.

Publications have been selected, which covered information on the use of conditioned media and MSC exosomes in the treatment of diseases of premature newborns. In comparison to MSCs, the use of cell-free agents has advantages: the use of the secretome eliminates the risks potentially associated with the transplantation of living and proliferative cell populations, including immune compatibility, tumorigenicity, emboli formation, and transmission of infections; MSC-derived secretome can be evaluated for safety, dosage, and efficacy in a manner similar to conventional pharmaceutical agents; storage can be carried out without the use of potentially toxic cryopreservatives for a long period without losing the effectiveness of the product; the use of secretome from MSCs, such as conditioned MSC medium, is more economical and more practical for clinical use, as it avoids invasive cell collection procedures; mass production is possible using custom-made cell lines in controlled laboratory conditions, providing a convenient source of bioactive factors; the time and cost of expansion and maintenance cultured stem cells

could be greatly reduced, and ready-made secretome therapies could be immediately available for the treatment of acute conditions; a biological product obtained for therapeutic use can be modified to have the desired cell-specific effects.

Conclusions. The treatment of premature newborns represents a unique clinical task, since their diseases involve dynamic physiological processes in immature, developing organs. The introduction into clinical use of cell-free biological agents is one of the most promising areas in the development of neonatology and will obviously change the paradigms in the treatment of a number of diseases of newborns, in particular bronchopulmonary dysplasia, hypoxic ischemic encephalopathy and necrotizing enterocolitis.

No conflict of interests was declared by the authors.

Keywords: mesenchymal stem cells, exosomes, conditioned media, newborns, prematurity, bronchopulmonary dysplasia, hypoxic-ischemic encephalopathy, necrotizing enterocolitis.

Вступ

Неонатальна медицина є однією з наймолодших спеціальностей у галузі охорони здоров'я. Термін «неонатологія» був введений у 1960 році, коли дедалі більше практиків зацікавилися доглядом за новонародженими [10]. Передчасні пологи, визначені Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) як пологи до 37 тижнів вагітності, є складним синдромом і залишаються серйозною глобальною проблемою охорони здоров'я [54]. Тягар ускладнень недоношеності є тривалим і охоплює дитинство та навіть зрілість [10]. Актуальним завданням на сьогодні є розробка «золотого стандарту» стратегії лікування найпоширеніших ускладнень недоношеності, таких як бронхолегенева дисплазія (БЛД), некротичний ентероколіт (НЕК), внутрішньошлунковий крововилив, перивентрикулярна лейкомаляція (ПВЛ), ретинопатія недоношених та ін. Своєю чергою в доношених новонароджених найпоширенішою причиною захворюваності є перинатальне ураження головного мозку, зокрема гіпоксично-ішемічна енцефалопатія (ГІЕ). Головна складність лікування у новонароджених полягає у тому, що захворювання виникають у незрілих органах, які розвиваються, та мають складні патофізіологічні механізми [10].

З урахуванням пластичності та регенеративного потенціалу органів, що розвиваються, найперспективнішою терапевтичною стратегією на сьогодні є застосування мезенхімальних стовбурових (стромальних) клітин (МСК) та їх похідних [24,38]. Міжнародне товариство клітинної терапії (International Society for Cell & Gene Therapy – ISCT) встановило чотири мінімальні критерії для визначення МСК, до яких належить фібробластоподібна морфологія, пластична адгезія, мультилінійна та багатопотенційна здатність до диференціації в остеобласти, адипоцити та хондроцити, а також експресія білків клітинної поверхні CD73, CD90 і CD105 та відсутність експресії специфічних маркерів лінії CD45, CD34, CD14, CD19, CD11b і HLA-DR [28].

Терапевтичний потенціал МСК можна пояснити за допомогою трьох ключових механізмів дії. Перший – це «хоумінг», при якому системно введені стовбурові клітини мігрують до вогнища гострого ураження через хімічні градієнти. Існує гіпотеза, що міграція до тканин-мішеней відбувається через процес, подібний до міграції лейкоцитів. Хемоатракція опосередкована рецепторами клітинної поверхні, такими як хемокінові рецептори. Хоча точний механізм взаємодії стовбурової клітини та ендотелію в місці-мішені недостатньо встановлений, інтегрини та селектини опосередковують ці взаємодії. Другим механізмом є диференціювання на кілька типів клітин, які локально приживлюються та індукують відновлення функції шляхом збільшення або заміни пошкоджених тканин. Третім основним механізмом є секреція біоактивних факторів, які потенційно можуть впливати як на місцеві, так і на системні фізіологічні процеси [53].

Велика кількість досліджень продемонструвала, що секретом, отриманий з МСК, має терапевтичні ефекти, подібні до тих, що спостерігаються після трансплантації МСК. Секретомом є набір отриманих з МСК біоактивних факторів – розчинних білків, нуклеїнових кислот, ліпідів та позаклітинних везикул, що секретируються в позаклітинний простір та можуть використовуватись як терапевтичний агент у складі культиваційного середовища (кондиціоноване середовище – КС-МСК) або як екзосоми, після їхнього виділення, та є безклітинним засобом біологічної терапії [15].

Використання безклітинних засобів (КС-МСК, екзосоми та ін.) забезпечує ключові переваги порівняно із застосуванням МСК [53]:

– застосування секретому зменшує ризики, пов'язані з трансплантацією живих і проліферативних популяцій клітин, зокрема імунну сумісність, пухлинногенність, утворення емболів і передачу інфекцій;

– секретом, отриманий з МСК, можна оцінити на безпечність, дозування та ефективність у спосіб, аналогічний звичайним фармацевтичним агентам;

— зберігання можна здійснювати без застосування потенційно токсичних кріоконсервантів протягом тривалого періоду без втрати ефективності продукту;

— використання секретому з МСК, такого як КС-МСК, є економічнішим і практичнішим для клінічного застосування, оскільки воно дозволяє уникнути інвазивних процедур збору клітин;

— можливе масове виробництво за допомогою спеціально виготовлених клітинних ліній у контрольованих лабораторних умовах, забезпечуючи зручне джерело біоактивних факторів;

— час і вартість розширення та підтримки культивованих стовбурових клітин можуть бути значно скорочені, а готові секретом будуть негайно доступні для лікування гострих станів;

— біологічний продукт, отриманий для терапевтичного застосування, може бути модифікований відповідно до бажаних клітинно-специфічних ефектів.

Іншим прикладом безклітинних біотехнологічних засобів є кріоконсервовані екстракти тканин (плаценти, селезінки, шкіри та ін.) [17,22,42]. В Україні розробкою та впровадженням кріоекстрактів у клінічну практику опікується Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України [18,19].

Мета: узагальнити сучасні відомості про терапевтичний потенціал безклітинних біологічних засобів у лікуванні передчасно народжених дітей за даними відкритих джерел інформації.

Підбір публікацій виконано за базами даних PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Clinical Key Elsevier (<https://www.clinicalkey.com>), Cochrane Library (<https://www.cochranelibrary.com/>), eBook Business Collection (<https://www.ebsco.com/>), та Google Scholar (<https://scholar.google.com/>), у яких висвітлювались відомості про застосування кондиціонованих середовищ та секретомів МСК у лікуванні передчасно народжених дітей. На першому етапі проведено пошук літературних джерел за ключовими словами: мезенхімальні стовбурові клітини, кондиціоноване середовище, секретом, новонароджені, недоношеність, неонатологія, БЛД, ПЕ, внутрішньошлуночковий крововилив, НЕК. На другому етапі вивчено/проаналізовано резюме статей та виключено публікації, які не відповідали критеріям дослідження. На третьому етапі проаналізовано у повному форматі тексти відібраних статей на відповідність

критеріям, включення до списку літератури та релевантність досліджень.

Отримати екзосоми можна не лише з кондиціонованих культуральних середовищ, але й з рідин організму — для подальшого вивчення їхнього біогенезу, складу та механізмів дії. Результати, отримані в експериментальних дослідженнях, свідчать про те, що секретом, отриманий з МСК, є перспективним терапевтичним інструментом для лікування дегенеративних та запальних захворювань. Корисні ефекти секретомів, отриманих із МСК, залежать від їхньої здатності доставляти нейротрофіни (нейротрофічний фактор мозку (BDNF), фактор росту нервів (NGF), фактор росту гепатоцитів (HGF), miR-17-92, miR-21, miR-124, miR-133b, miR146a, які забезпечують регенерацію пошкодженої печінки, головного мозку, спинного мозку та очей [24,53,54]. Секретоми, отримані з МСК, містять імуномодулюючі фактори, які пригнічують проліферацію та активацію запальних імунних клітин і сприяють розширенню імуносупресивних клітин, що призводить до полегшення станів пов'язаних із запаленням. Секретоми, отримані з МСК, збагачені ангіомодулюючими факторами (фактор-1, отриманий зі стромальних клітин (SDF-1), miR-132, тромбоцитарний фактор росту (PDGF), фактор росту ендотелію судин (VEGF)), які сприяють ангіогенезу та неоваскуляризації в ішемізованих областях мозку та серця, що підвищує виживання пошкоджених нейронів та кардіоміоцитів. Останнім часом особливу зацікавленість викликає вивчення впливу попереднього кондиціонування МСК у стимуляції їхніх функціональних властивостей, таких як гіпоксія та праймінг цитокінів, що значно змінюють вміст і терапевтичні ефекти секретому, отриманого з МСК [15,53].

Незважаючи на зростання рівня експериментально-теоретичних уявлень про механізми біологічної дії МСК, перехід від експериментальних досліджень до їхнього клінічного впровадження відбувається доволі повільно (рис. 1) [29].

Безклітинний секретом МСК, який складається з широкого спектру факторів росту, цитокінів, хемокінів та позаклітинних везикул, демонструє плюрипотентний ефект [9]. Секретоми, отримані з МСК, передусім містять позаклітинні везикули, такі як екзосоми, які є гетерогенною популяцією нанорозмірних везикул, обмежених ліпідним бішаром, які не мі-

ствяють ядра та власне забезпечують паракринні ефекти МСК [38,41,52]. Екзосоми містять нуклеїнові кислоти, зокрема мікроРНК, і білки, які після секреції в позаклітинний простір зливаються з клітинними мембранами клітин-реципієнтів, здійснюючи транскрипційні та посттрансляційні модифікації (рис. 2) [38,49].

Передчасно народжені діти мають/виконують унікальне клінічне завдання, оскільки їхні захворювання охоплюють динамічні фізіологічні процеси в незрілих органах, що розвиваються. Поточні стратегії лікування, включно з препаратами, спрямованими на один шлях, призвели до невеликих і лише поступових покращень. Своєю чергою дослідження та впровадження у клінічне застосування інноваційних клітинних (зокрема МСК) та безклітинних (зокрема екзосоми МСК та КС-МСК) вочевидь змінять парадигми в лікуванні цих захворювань [55].

Бронхолегенева дисплазія та легенева гіпертензія. БЛД, описана ще у 1967 р. [39], досі залишається одним із найпоширеніших та важких ускладнень у передчасно народжених дітей, яке обумовлює потребу у штучній вентиляції легень та кисневої терапії через гостру респіраторну недостатність [1]. Клінічні епідеміологічні дослідження показують, що частота БЛД у передчасно народжених дітей становить близько 40,0% та зростає зі зменшенням гестаційного віку [48,58]. Патогенез БЛД наразі не чітко встановлений. До найпоширеніших факторів ризику належать: передчасні пологи, затримка розвитку плода, тютюнопаління матері,



Рис. 1. Фазовий розподіл окремих поточних клінічних досліджень ефективності застосування МСК у новонароджених (адаптовано за [38])

штучну вентиляцію легень, кисневе отруєння, інфекції, запалення, відкриту артеріальну протоку, генетику, пізній дефіцит сурфактанту, порушення ангиогенезу та ін. [48,58].

Наразі МСК проходять клінічні випробування для лікування передчасно народжених дітей із БЛД та демонструють високий лікувальний потенціал [37,56]. Оскільки легенева мікросудинна дисплазія є одним із основних патологічних проявів БЛД, поліпшення легеневого ангиогенезу є ключовим у корекції дисплазії легневих судин [1,43]. Досліджено, що раннє ендотрахеальне введення МСК покращує альвеоляризацію, сприяє ангиогенезу, знижує легеневу гіпертензію та сповільнює процеси ремоделювання судин. Очевидно, що ці ефекти здебільшого опосередковані паракринною дією МСК [46,50]. У дослідженні Venpu M. та співавторів [7] продемонстровано, що МСК з кісткового мозку та МСК з пуповини мають значні регенеративні ефекти при експериментальній БЛД. Водночас пуповинні МСК пригнічували

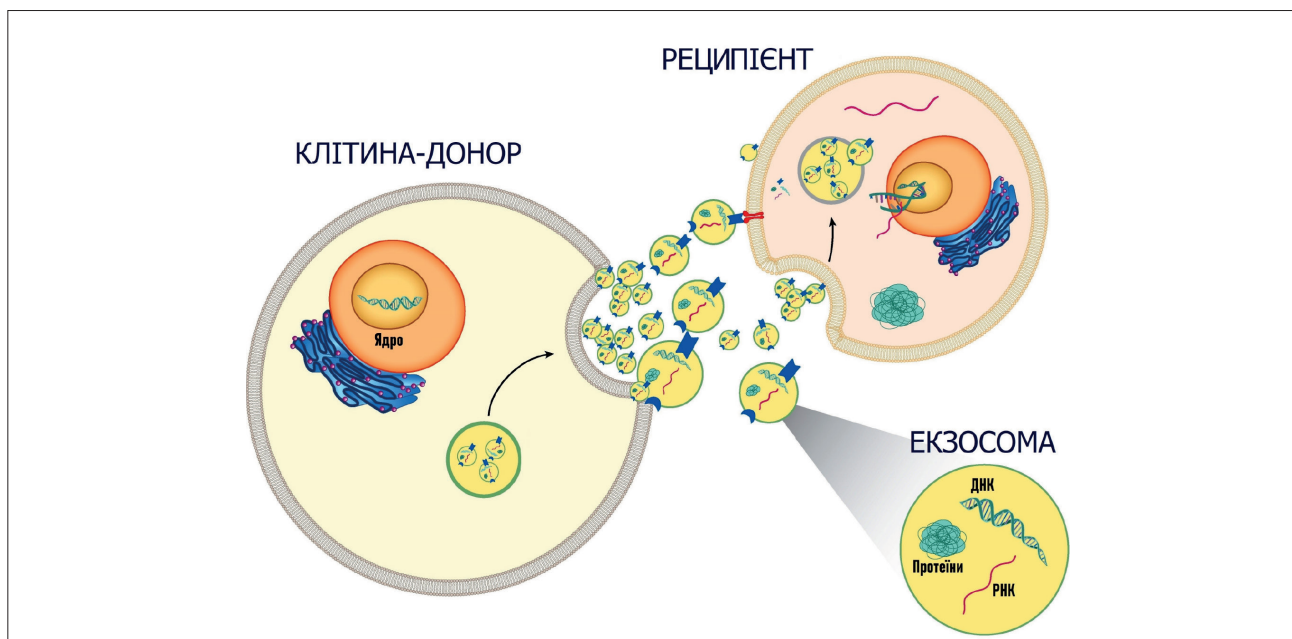


Рис. 2. Екзосоми, як месенджери міжклітинного зв'язку (адаптовано за [24])

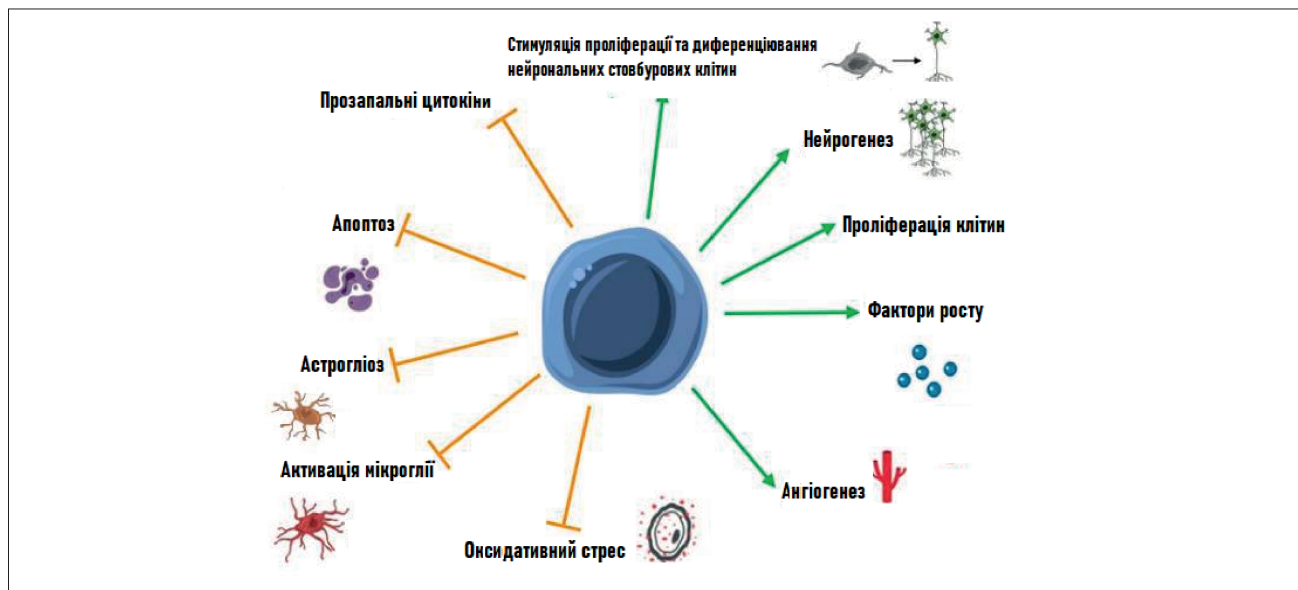
ОГЛЯДИ

інфільтрацію та більшою мірою сприяли відновленню легеневих епітеліальних клітин [7]. У систематичному огляді 25 досліджень ефективності МСК, у яких використовували неонатальних гризунів, які піддавалися гіпероксії, для моделювання БЛД [5] показано, що застосування МСК покращувало альвеоляризацію, незалежно від терміну лікування, джерела, дози або шляху введення.

Також відомо, що основними патологічними ознаками БЛД у передчасно народжених дітей є гіпоплазія альвеол, зменшення їхньої кількості, збільшення об'єму та спрощена структура альвеол. Надмірна дисфункція альвеолярних епітеліальних клітин II типу є основною причиною альвеолярної гіпоплазії. Низка досліджень показала, що МСК-екзосоми відіграють антиапоптотичну роль у захворюваннях, тісно

пов'язаних з апоптозом, шляхом регулювання вказаного процесу [8,57]. У дослідженні Ai D. та співав. [2]. надано ключові доклінічні докази терапевтичного впливу екзосом з МСК при БЛД шляхом пригнічення трансдиференціювання альвеолярних епітеліальних клітин II типу та його можливий механізм через зниження регуляції сигнального шляху WNT5a (Wingless-type MMTV integration site family member 5a), що узгоджується з даними про зміни в експресії гена WNT5a в легенях новонароджених з БЛД [2].

Однією з важливих характеристик БЛД є розвиток гіпертензії, частота якої становить 19,4–40,0%, що корелює зі ступенем БЛД. You J. та співав. [27] виявили, що МСК-екзосоми з пуповини успішно поглиналися легеневою тканиною після інтратрахеального введення та залишалися в легенях щонайменше 72 год.



Примітки: стрілки - стимулюванням або посиленням регуляції; усчені стрілки - інгібуванням або зниженням регуляції.

Рис. 3. Механізм дії МСК при ГЕ (адаптовано за [47])

Таблиця 1

Клініко-параклінічна характеристика дітей з аутоімунними захворюваннями печінки в динаміці спостереження

Патогенетичний механізм	Терапевтична гіпотермія	МСК кордової крові		МСК пуповини/кісткового мозку
Енергетичне виснаження	++ [35]	+ [20]		немає відомостей
Порушення мікроглії	+ [44]	+ [26]		++ [12,21,33]
Запалення	+ [6,40]	+ [4]		++ [3,33,36]
Ексайтотоксичність	+ [32]	немає відомостей		+ [34]
Окислювальний стрес	+ [32]	+ [16]		+ [34]
Апоптоз	+ [60]	+ [16]		+ [34]
Посилення регенерації	немає відомостей	+ [40]		+ [14]

Результати досліджень показали, що екзосоми з МСК пуповини людини не тільки можуть покращити альвеоляризацію та ангиогенез, але й також можуть полегшити легеневу гіпертензію при змодельованій БЛД [58,59].

Гіпоксична ішемічна енцефалопатія обумовлена гострим зниженням церебрального кровотоку, ішемією і некрозом, що супроводжується запальним та реперфузійним пошкодженням [51]. У дослідженні [13] продемонстровано, що введення МСК зменшують апоптоз та покращують когнітивні здібності на модельній ГІЕ шляхом пригнічення сигнального шляху TLR2/NFκB (*Toll-like receptor 2/ nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) через механізм зворотного зв'язку, який зменшує вивільнення ІЛ-10. У систематичному огляді 58 доклінічних досліджень [47], показано, що приблизно у 80,0% цих праць повідомлено про значне покращення когнітивної та/або сенсомоторної функції, а також про зменшення пошкодження мозку під впливом введення МСК при ГІЕ. Варто зазначити, що оскільки ГІЕ є процесом, що розвивається, час лікування має вирішальне значення. Окрім підтримувальної інтенсивної терапії, наразі стандартом лікування є терапевтична гіпотермія, яка полягає в охолодженні температури тіла до 33,5°C протягом 72 годин, починаючи з перших 6 год. після народження [11]. За даними [35], МСК мають комплексний вплив при ГІЕ (рис. 3), який зокрема включає попередження астрогліозу, запалення, ексайтотоксичності, окислювального стресу та апоптозу.

Узагальнені відомості про механізми нейропротективної дії терапевтичної гіпотермії та МСК різного походження наведено у табл. 1.

Некротичний ентероколіт є основною причиною захворюваності та смертності недо-

ношених дітей, причому за останні два десятиліття смертність від вказаної патології сягає 20,0–30,0% [38,54]. На експериментальних моделях показано, що МСК, отримані з кісткового мозку, амніотичної рідини та кишкових нервових стовбурових клітин мають співставну ефективність при НЕК [31]. Крім того, С.Д. McCulloh та співавторів [30] показали, що екзосоми, отримані з МСК настільки ж ефективні у зниженні частоти та тяжкості експериментального НЕК, як і безпосередньо МСК. Привертає увагу той факт, що позаклітинні везикули стовбурових клітин, отримані з молока великої рогатої худоби, також виявляють цитопротективну активність при НЕК [25].

Висновки

Лікування передчасно народжених дітей є унікальним клінічним завданням, оскільки їх захворювання охоплюють динамічні фізіологічні процеси в незрілих органах, що розвиваються. Впровадження у клінічне застосування безклітинних біологічних засобів є одним із найперспективніших напрямків розвитку неонатології та вочевидь змінять парадигми в лікуванні цілої низки захворювань новонароджених, зокрема БЛД, ГІЕ та НЕК.

Перспективи подальших досліджень. Результати проведеного патентно-інформаційного пошуку вказують на перспективність дослідження МСК та безклітинних похідних, як терапевтичних агентів для лікування у перинатальній медицині.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Робота не отримувала фінансування видатками Державного бюджету України.

REFERENCES/ЛІТЕРАТУРА

1. Abman SH, Matthay MA. (2009, Dec 1). Mesenchymal stem cells for the prevention of bronchopulmonary dysplasia: delivering the secretome. *Am J Respir Crit Care Med.* 180(11): 1039–1041. <https://doi.org/10.1164/rccm.200909-1330ED>. PMID: 19923401.
2. Ai D, Shen J, Sun J, Zhu Z, Gao R, Du Y et al. (2022, Feb). Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Suppress Hypoxia-Induced Transdifferentiation of Rat Alveolar Type 2 Epithelial Cells. *Stem Cells Dev.* 31(3–4): 53–66. Epub 2022 Jan 19. <https://doi.org/10.1089/scd.2021.0256>. PMID: 34913742.
3. Archambault J, Moreira A, McDaniel D, Winter L, Sun L, Hornsby P. (2017). Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells for hypoxic ischemic encephalopathy: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *PLoS One.* 12(12): e0189895.
4. Aridas JD, McDonald CA, Paton MC. (2016). Cord blood mononuclear cells prevent neuronal apoptosis in response to perinatal asphyxia in the newborn lamb. *J Physiol.* 594(05): 1421–1435.
5. Augustine S, Avey MT, Harrison B, Locke T, Ghannad M, Moher D, Thébaud B. (2017, Dec). Mesenchymal Stromal Cell Therapy in Bronchopulmonary Dysplasia: Systematic Review and Meta-Analysis of Preclinical Studies. *Stem Cells Transl Med.* 6(12): 2079–2093. Epub 2017 Oct 17. <https://doi.org/10.1002/sctm.17-0126>. PMID: 29045045; PMCID: PMC5702524.
6. Chevin M, Guiraut C, Sèbire G. (2018). Effect of hypothermia on interleukin-1 receptor antagonist pharmacodynamics in inflammatory-sensitized hypoxic-ischemic encephalopathy of term newborns. *J Neuroinflammation.* 15(01): 214.
7. Benny M, Courchia B, Shrager S, Sharma M, Chen P, Duara J et al. (2022, Mar 17). Comparative Effects of Bone Marrow-de-

- rived Versus Umbilical Cord Tissue Mesenchymal Stem Cells in an Experimental Model of Bronchopulmonary Dysplasia. *Stem Cells Transl Med.* 11(2): 189–199. <https://doi.org/10.1093/stcltm/szab011>. PMID: 35298658; PMCID: PMC8929420.
8. Chaubey S, Thueson S, Ponnalagu D, Alam MA, Gheorghe CP, Aghai Z et al. (2018, Jun 26). Early gestational mesenchymal stem cell secretome attenuates experimental bronchopulmonary dysplasia in part via exosome-associated factor TSG-6. *Stem Cell Res Ther.* 9(1): 173. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0903-4>. PMID: 29941022; PMCID: PMC6019224.
 9. Cunningham CJ, Redondo-Castro E, Allan SM. (2018). The therapeutic potential of the mesenchymal stem cell secretome in ischaemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* [Internet]. 38: 1276–1292. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29768965>.
 10. Damianos A, Sammour I. (2023, Apr). Barriers in translating stem cell therapies for neonatal diseases. *Semin Perinatol.* 47(3): 151731. Epub 2023 Mar 16. <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2023.151731>. PMID: 36990922.
 11. Davidson JO, Wassink G, van den Heuvel LG, Bennet L, Gunn AJ. (2015, Sep 14). Therapeutic Hypothermia for Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy—Where to from Here? *Front Neurol.* 6: 198. <https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00198>. PMID: 26441818; PMCID: PMC4568393.
 12. Ding M, Shen Y, Wang P. (2018). Exosomes isolated from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate neuroinflammation and reduce amyloid-beta deposition by modulating microglial activation in Alzheimer's disease. *Neurochem Res.* 43(11): 2165–2177.
 13. Gu Y, Zhang Y, Bi Y, Liu J, Tan B, Gong M et al. (2015, Oct 17). Mesenchymal stem cells suppress neuronal apoptosis and decrease IL-10 release via the TLR2/NFκB pathway in rats with hypoxic-ischemic brain damage. *Mol Brain.* 8(1): 65. <https://doi.org/10.1186/s13041-015-0157-3>. PMID: 26475712; PMCID: PMC4609057.
 14. Guo Z Y, Sun X, Xu X L, Zhao Q, Peng J, Wang Y. (2015). Human umbilical cord mesenchymal stem cells promote peripheral nerve repair via paracrine mechanisms. *Neural Regen Res.* 10(04): 651–658.
 15. Harrell CR, Fellabaum C, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. (2019, May 16). Molecular Mechanisms Responsible for Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome. *Cells.* 8(5): 467. <https://doi.org/10.3390/cells8050467>. PMID: 31100966; PMCID: PMC6562906.
 16. Hattori T, Sato Y, Kondo T. (2015). Administration of umbilical cord blood cells transiently decreased hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Dev Neurosci.* 37(02): 95–104.
 17. Hladkykh FV. (2021). The effect of meloxicam and cryopreserved placenta extract on initial inflammatory response (an experimental study). *Ceska a Slovenska Farmacie.* 70 (5): 179–185. <https://doi.org/10.5817/CSF2021-5-179>.
 18. Hladkykh FV. (2021). Anti-inflammatory properties of diclofenac sodium on background of its combined use with cryopreserved placenta extract in experiment. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine.* 31 (4): 364–367. <https://doi.org/10.15407/cryo31.04.364>.
 19. Hladkykh FV, Chyzh MO, Manchenko AO, Belochkina IV, Mikhailova IP. (2021). Effect of cryopreserved placenta extract on some biochemical indices of therapeutic efficiency and toxicity of diclofenac sodium in adjuvant-induced experimental arthritis. *Pharmacy & Pharmacology.* 9 (4): 278–293. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-278-293>.
 20. Kikuchi-Taura A, Okinaka Y, Takeuchi Y. (2020). Bone marrow mononuclear cells activate angiogenesis via GAP junction-mediated cell-cell interaction. *Stroke.* 51(04): 1279–1289.
 21. Kim S, Kim Y E, Hong S. (2020). Reactive microglia and astrocytes in neonatal intraventricular hemorrhage model are blocked by mesenchymal stem cells. *Glia.* 68(01): 178–192.
 22. Koshurba IV, Chyzh MO, Hladkykh FV. (2022). Influence of placenta cryoextract on the liver metabolic and functional state in case of D-galactosamine hepatitis. *Innovative Biosystems and Bioengineering.* 6 (2): 64–74. <https://doi.org/10.20535/ibb.2022.6.2.264774>.
 23. Koshurba IV, Hladkykh FV, Chyzh MO, Belochkina IV, Rubleva TV. (2022). Hepatotropic effects of triple antiulcer therapy and placenta cryoextract: the role of sex factors in lipoperoxidation. *Fiziolohichnyi zhurnal.* 68 (5): 25–32. <https://doi.org/10.15407/fz68.05.025>.
 24. Kourembanas S. (2015). Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy. *Annu Rev Physiol.* 77:13–27. Epub 2014 Sep 25. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021014-071641>. PMID: 25293529.
 25. Li B, Hock A, Wu RY et al. (2019). Bovine milk-derived exosomes enhance goblet cell activity and prevent the development of experimental necrotizing enterocolitis. *PLoS One.* [Internet]. 14: e0211431. URL: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0211431>.
 26. Li J, Yawno T, Sutherland A. (2016). Preterm white matter brain injury is prevented by early administration of umbilical cord blood cells. *Exp Neurol.* 283; pt A: 179–187.
 27. Lingappan K, Savani RC. (2020, May 15). The Wnt Signaling Pathway and the Development of Bronchopulmonary Dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* 201(10): 1174–1176. <https://doi.org/10.1164/rccm.202002-0277ED>. PMID: 32101467; PMCID: PMC7233338.
 28. Maldonado VV, Patel NH, Smith EE, Barnes CL, Gustafson MP, Rao RR, Samsonraj RM. (2023, Jul 11). Clinical utility of mesenchymal stem/stromal cells in regenerative medicine and cellular therapy. *J Biol Eng.* 17(1): 44. <https://doi.org/10.1186/s13036-023-00361-9>. PMID: 37434264; PMCID: PMC10334654.
 29. Marolt Presen D, Traweger A, Gimona M, Redl H. (2019, Nov 27). Mesenchymal Stromal Cell-Based Bone Regeneration Therapies: From Cell Transplantation and Tissue Engineering to Therapeutic Secretomes and Extracellular Vesicles. *Front Bioeng Biotechnol.* 7: 352. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00352>. PMID: 31828066; PMCID: PMC6890555.
 30. McCulloh CJ, Olson JK, Wang Y et al. (2018). Treatment of experimental necrotizing enterocolitis with stem cell-derived exosomes. *J Pediatr Surg.* [Internet]. 53: 1215–1220. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29661576>.
 31. McCulloh CJ, Olson JK, Zhou Y, Wang Y, Besner GE. (2017). Stem cells and necrotizing enterocolitis: A direct comparison of the efficacy of multiple types of stem cells. *J Pediatr Surg.* [Internet]. 52: 999–1005. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002234681730177X>.
 32. McManus T, Sadgrove M, Pringle AK, Chad JE, Sundstrom LE. (2004). Intraischemic hypothermia reduces free radical production and protects against ischemic insults in cultured hippocampal slices. *J Neurochem.* 91(02): 327–336.
 33. Mukai T, Martino ED, Tsuji S. (2021). Umbilical cord tissue-derived mesenchymal stromal cells immunomodulate and restore actin dynamics and phagocytosis of lipopolysaccharide-activated microglia via the PI3K/Akt/Rho GTPase pathway, with lot-to-lot variation. *Cell Death Disc.* 7: 46.
 34. Mukai T, Tojo A, Nagamura-Inoue T. (2018). Umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells contribute to neuroprotection in neonatal cortical neurons damaged by oxygen-glucose deprivation. *Front Neurol.* 9: 466.
 35. Nabetani M, Mukai T, Shintaku H. (2022, Dec). Preventing Brain Damage from Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in Neonates: Update on Mesenchymal Stromal Cells and Umbilical Cord Blood Cells. *Am J Perinatol.* 39(16): 1754–1763. Epub 2021 Apr 14. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1726451>. PMID: 33853147; PMCID: PMC9674406.
 36. Nagamura-Inoue T, Mukai T. (2016). Umbilical cord is a rich source of mesenchymal stromal cells for cell therapy. *Curr Stem Cell Res Ther.* 11(08): 634–642.
 37. Nguyen LT, Trieu TTH, Bui HTH, Hoang VT, Nguyen ATT, Trinh NTH et al. (2020, Oct 20). Allogeneic administration of human umbilical cord-derived mesenchymal stem/stromal cells for bronchopulmonary dysplasia: preliminary outcomes in four Vietnamese infants. *J Transl Med.* 18(1): 398. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02568-6>. PMID: 33081796; PMCID: PMC7576694.
 38. Nitkin CR, Rajasingh J, Pisano C, Besner GE, Thébaud B, Sampath V. (2020, Jan). Stem cell therapy for preventing neonatal diseases in the 21st century: Current understanding and challenges. *Pediatr Res.* 87(2): 265–276. Epub 2019 May 14. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0425-5>. PMID: 31086355; PMCID: PMC6854309.

39. Northway WH. (1970, May). Perinatal pulmonary roentgenography. *Calif Med.* 112(5): 59–60. PMID: 18730313; PMCID: PMC1501241.
40. Perrone S, Weiss M D, Proietti F. (2018). Identification of a panel of cytokines in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Cytokine.* 111: 119–124.
41. Phan J, Kumar P, Hao D, Gao K, Farmer D, Wang A. (2018, Sep 26). Engineering mesenchymal stem cells to improve their exosome efficacy and yield for cell-free therapy. *J Extracell Vesicles.* 7(1): 1522236. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1522236>. PMID: 30275938; PMCID: PMC6161586.
42. Pogozhykh O, Prokopyuk V, Figueiredo C, Pogozhykh D. (2018, Jan 18). Placenta and Placental Derivatives in Regenerative Therapies: Experimental Studies, History, and Prospects. *Stem Cells Int.* 2018: 4837930. <https://doi.org/10.1155/2018/4837930>. PMID: 29535770; PMCID: PMC5822788.
43. Porzionato A, Zaramella P, Dedja A, Guidolin D, Van Wemmel K, Macchi V et al. (2019, Jan 1). Intratracheal administration of clinical-grade mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles reduces lung injury in a rat model of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 316(1): L6-L19. Epub 2018 Oct 4. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00109.2018>. PMID: 30284924.
44. Rocha-Ferreira E, Vincent A, Bright S, Peebles D M, Hristova M. (2018). The duration of hypothermia affects short-term neuroprotection in a mouse model of neonatal hypoxic ischaemic injury. *PLoS One.* 13(07): e0199890.
45. Rosenkranz K, Kumbuch S, Lebermann K. (2010). The chemokine SDF-1/CXCL12 contributes to the 'homing' of umbilical cord blood cells to a hypoxic-ischemic lesion in the rat brain. *J Neurosci Res.* 88(06): 1223–1233.
46. Sammour I, Somashekar S, Huang J, Batlahally S, Breton M, Valasak K et al. (2016, Oct 6). The Effect of Gender on Mesenchymal Stem Cell (MSC) Efficacy in Neonatal Hyperoxia-Induced Lung Injury. *PLoS One.* 11(10): e0164269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164269>. PMID: 27711256; PMCID: PMC5053475.
47. Serrenho I, Rosado M, Dinis A, Cardoso MC, Grãos M, Manadas B, Baltazar G. (2021, Mar 19). Stem Cell Therapy for Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Systematic Review of Preclinical Studies. *Int J Mol Sci.* 22(6): 3142. <https://doi.org/10.3390/ijms22063142>. PMID: 33808671; PMCID: PMC8003344.
48. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Walsh MC, Carlo WA, Shankaran S et al. (2015, Sep 8). Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993–2012. *JAMA.* 314(10): 1039–1051. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.10244>. PMID: 26348753; PMCID: PMC4787615.
49. Stoorvogel W. (2012). Functional transfer of microRNA by exosomes. *Blood.* [Internet]. 119: 646–648. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22262>.
50. Sutsko RP, Young KC, Ribeiro A, Torres E, Rodriguez M, Hehre D et al. (2013, Jan). Long-term reparative effects of mesenchymal stem cell therapy following neonatal hyperoxia-induced lung injury. *Pediatr Res.* 73(1): 46–53. Epub 2012 Nov 8. <https://doi.org/10.1038/pr.2012.152>. PMID: 23138401.
51. Van Velthoven CT, Kavelaars A, Heijnen CJ. (2012, Apr). Mesenchymal stem cells as a treatment for neonatal ischemic brain damage. *Pediatr Res.* 71 (4 Pt 2): 474–481. Epub 2012 Feb 8. <https://doi.org/10.1038/pr.2011.64>. PMID: 22430383.
52. Villatoro AJ, Alcoholado C, Martín-Astorga MC, Fernández V, Cifuentes M, Becerra J. (2019, Feb). Comparative analysis and characterization of soluble factors and exosomes from cultured adipose tissue and bone marrow mesenchymal stem cells in canine species. *Vet Immunol Immunopathol.* 208: 6–15. Epub 2018 Dec 18. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.12.003>. PMID: 30712794.
53. Vizoso FJ, Eiro N, Schneider J, Perez-Fernandez R. (2017, Aug 25). Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci.* 18(9): 1852. <https://doi.org/10.3390/ijms18091852>. PMID: 28841158; PMCID: PMC5618501.
54. Wang Y, Long W, Cao Y, Li J, You L, Fan Y. (2020, May 29). Mesenchymal stem cell-derived secretomes for therapeutic potential of premature infant diseases. *Biosci Rep.* 40(5): BSR20200241. <https://doi.org/10.1042/BSR20200241>. PMID: 32320046; PMCID: PMC7953482.
55. Willis GR, Mitsialis SA, Kourembanas S. (2018, Jan). «Good things come in small packages»: application of exosome-based therapeutics in neonatal lung injury. *Pediatr Res.* 83(1–2): 298–307. Epub 2017 Nov 22. <https://doi.org/10.1038/pr.2017.256>. PMID: 28985201; PMCID: PMC5876073.
56. Wu X, Xia Y, Zhou O, Song Y, Zhang X, Tian D et al. (2020, Jan 31). Allogeneic human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for severe bronchopulmonary dysplasia in children: study protocol for a randomized controlled trial (MSC-BPD trial). *Trials.* 21(1): 125. <https://doi.org/10.1186/s13063-019-3935-x>. PMID: 32005282; PMCID: PMC6995070.
57. Wu Y, Li J, Yuan R, Deng Z, Wu X. (2021, Jan 15). Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate hyperoxia-induced lung injury via the manipulation of microRNA-425. *Arch Biochem Biophys.* 697: 108712. Epub 2020 Nov 29. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108712>. PMID: 33264631.
58. Xi Y, Ju R, Wang Y. (2022, Apr 4). Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles for the Treatment of Bronchopulmonary Dysplasia. *Front Pediatr.* 10: 852034. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.852034>. PMID: 35444971; PMCID: PMC9013803.
59. You J, Zhou O, Liu J, Zou W, Zhang L, Tian D et al. (2020, Dec 1). Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell-Derived Small Extracellular Vesicles Alleviate Lung Injury in Rat Model of Bronchopulmonary Dysplasia by Affecting Cell Survival and Angiogenesis. *Stem Cells Dev.* 29(23): 1520–1532. Epub 2020 Nov 4. <https://doi.org/10.1089/scd.2020.0156>. PMID: 33040709.
60. Zhou T, Lin H, Jiang L. (2018). Mild hypothermia protects hippocampal neurons from oxygen-glucose deprivation injury through inhibiting caspase-3 activation. *Cryobiology.* 80: 55–61.

Відомості про авторів:

Гладких Федір Володимирович — д. філос., докторант каф. інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна. Адреса: м. Харків, Майдан Свободи, буд. 6; мол. н. с. відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

Адреса: м. Харків, вул. Переяславська, 23. Ст. н. с. групи променевої автології та паліативної медицини відділу радіології ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва НАМН України». Адреса: м. Харків, вул. Пушкінська, 82. www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57226085532, <https://www.webofscience.com/wos/author/record/1507258>, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>.

Кожурба Ілля Васильович — аспірант відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Адреса: м. Харків, вул. Переяславська, 23. Медичний директор з неонатологічної допомоги КНП «Чернівецький обласний перинатальний центр». Адреса: м. Чернівці, вул. Буковинська, 1а. Асистент каф. педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Буковинський ДМУ. Адреса: м. Чернівці, Театральна площа, 2. <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57499305600>, <https://www.webofscience.com/wos/author/record/3335102>, <https://orcid.org/0000-0002-4595-9245>.

Чиж Микола Олексійович — к. мед. н., ст. дослідник, зав. відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Адреса: м. Харків, вул. Переяславська, 23. <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=36609804700>, <https://www.webofscience.com/wos/author/record/2499258>, <https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>.

Жученко Павло Сергійович — к. мед. н., доц. каф. патологічної анатомії ВНМУ ім. М. І. Пирогова. Адреса: м. Вінниця, вул. Пирогова, 56. <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57204097754>, <https://orcid.org/0000-0003-3295-8582>

Кожурба Юрій Васильович — лікар КНП «Чернівецький обласний перинатальний центр». Адреса: м. Чернівці, вул. Буковинська, 1а. <https://orcid.org/0009-0006-2194-298X>.

Стаття надійшла до редакції 02.10.2023 р., прийнята до друку 12.12.2023 р.