

## Применение микроРибонуклеиновых кислот в терапии ишемического инсульта

Гареев И. Ф., Новикова Л. Б., Бейлерли О. А.

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России. Уфа, Республика Башкортостан, Россия

Инсульт является одной из ведущих причин смерти и инвалидности во всем мире. Последствия инсульта проявляются глубокой и стойкой клинической симптоматикой, что в значительной степени ложится бременем, как на пациента, так и на общество. Текущие методы лечения ишемического инсульта оказались недостаточными, отчасти из-за неполного понимания клеточных и молекулярных изменений, происходящих при инсульте. МикроРибонуклеиновые кислоты (микроРНК) представляют собой эндогенно экспрессируемые молекулы Рибонуклеиновой кислоты (РНК) длиной 18-22 нуклеотида, которые подавляют экспрессию гена на посттранскрипционном уровне путем связывания с 3'-нетранслируемой областью матричных Рибонуклеиновых кислот-мишеней. МикроРНК участвуют практически во всех биологических процессах, включая клеточную пролиферацию, апоптоз и дифференцировку клеток, но и так же играют ключевую роль в патофизиологических процессах, способствующих ишемическому поражению. Более того, микроРНК могут представлять собой не только как потенциальные биомаркеры, но и стать новыми терапевтическими мишенями в клинической практике, что опять же подтверждает необходимость их изучения. Терапия, основанная на микроРНК, включает агонисты или мимики и ингибиторы (антагомиры), что соответственно уменьшает и увеличивает экспрессию генов-мишеней. В этом обзоре суммируются современные знания на текущий момент о фундаментальных

исследованиях применения микроРНК в лечении инсульта. Обсуждаются методы лечения, временные окна и дозировки для эффективной доставки препаратов, основанных на микроРНК, в центральную нервную систему. Рассматриваются воздействия микроРНК-терапии на основные патологические механизмы инсульта, включая окислительный стресс, воспаление, апоптоз, ангиогенез, нейрогенез и сохранность гематоэнцефалического барьера.

**Ключевые слова:** микроРНК, инсульт, экспрессия, терапия, мимики, ингибиторы.

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Финансирование.** Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта Республики Башкортостан молодым ученым от 5 февраля 2019 № УГ-28.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2019;18(5):66–73  
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2019-5-66-73>

Поступила 27/11-2018

Рецензия получена 10/12-2018

Принята к публикации 10/01-2019



### Application of microRNA in the therapy of ischemic stroke

Gareev I. F., Novikova L. B., Beylerli O. A.

Bashkir State Medical University, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

Stroke is one of the leading causes of death and disability worldwide. The consequences of a stroke are manifested by deep and persistent clinical symptoms, which largely impose a burden on both the patient and society. Current treatments for ischemic stroke have proven to be inadequate, in part because of an incomplete understanding of the cellular and molecular changes that occur during a stroke. Micro-ribonucleic acids (MicroRNAs) are endogenously expressed ribonucleic acid (RNA) of 18-22 nucleotides in length that suppress gene expression at the post-transcriptional level by binding to the 3'-untranslated region of the messenger ribonucleic acids targets. MicroRNAs are involved in virtually all biological processes, including cell proliferation, apoptosis, and cell differentiation, but also play a key role in the pathophysiological processes that contribute to ischemic damage. Moreover, miRNAs can represent not only potential biomarkers, but also become new therapeutic targets in clinical practice, which again confirms the need for their study. Therapy based on miRNA, includes agonists or facial expressions and inhibitors (antagomirs), which accordingly reduces and increases the expression of target genes. In this review, we summarize

the current knowledge of fundamental research in the use of microRNAs in the treatment of stroke. The treatment methods, time windows and dosages for the effective delivery of microRNA-based drugs to the central nervous system are discussed. The effects of microRNA therapy on the main pathological mechanisms of stroke, including oxidative stress, inflammation, apoptosis, angiogenesis, neurogenesis, and the safety of the blood-brain barrier are considered.

**Key words:** MicroRNA, stroke, expression, therapy, mimics, inhibitors.

**Conflicts of interest:** nothing to declare.

**Funding.** This work was financially supported by a grant from the Republic of Bashkortostan to young scientists dated February 5, 2019 № УГ-28.

Cardiovascular Therapy and Prevention. 2019;18(5):66–73  
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2019-5-66-73>

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: [ilgiz\\_gareev@mail.ru](mailto:ilgiz_gareev@mail.ru)

Тел.: +7 (937) 495-29-27

[Гареев И. Ф.\* — аспирант кафедры нейрохирургии и медицинской реабилитации с курсом ИДПО, ORCID: 0000-0002-4965-0835, Новикова Л. Б.— д. м. н., профессор, зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии ИДПО, ORCID: 0000-0001-8469-1635, Бейлерли О. А.— аспирант кафедры урологии с курсом ИДПО, ORCID: 0000-0002-6149-5460].

ААВ — модифицированные аденоассоциированные вирусы, в/в — внутривенное, ГЭБ — гематоэнцефалический барьер, ИЦВ — интрацеребровентрикулярное введение, микроРНК — микроРНК-рибонуклеиновая кислота, мРНК — матричная РНК-рибонуклеиновая кислота, МСК — мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, ОСМА — окклюзия средней мозговой артерии, РНК — РНК-рибонуклеиновая кислота, ЦНС — центральная нервная система, Anti-miR — антагомиров или ингибиторов целевых микроРНК-рибонуклеиновых кислот, АQP — аквапорины, H<sub>2</sub>S — сероводород, MiR mimic — мимиков или агонистов целевых микроРНК-рибонуклеиновых кислот, PTEN — белок фосфатазы и гомолога тензина.

## Введение

Ишемический инсульт является основной причиной смерти и инвалидности, в результате чего происходит >6 млн смертей в год во всем мире [1, 2]. Основной причиной ишемического инсульта является нарушение кровоснабжения головного мозга, что в свою очередь приводит к дефициту кислорода и питательных веществ, вызывая повреждение головного мозга. Патологические механизмы инсульта и нейропротекторные эффекты различных лекарств всесторонне изучались на протяжении многих лет, однако в настоящее время отсутствуют доступные лекарства с определенной эффективностью. В последние годы было обнаружено, что сотни генов ассоциируются с патогенезом инсульта, но лишь немногие из них, как оказалось, оказывают влияние на его восприимчивость к лечению. Во многих исследованиях основное внимание уделялось воздействию микроРНК-рибонуклеиновых кислот (микроРНК, miRNAs) на патогенез инсульта, поскольку предыдущие работы показали, что экспрессия микроРНК была связана с прогнозом этого заболевания [3, 4].

МикроРНК представляют собой небольшие некодирующие молекулы РНК-рибонуклеиновой кислоты (РНК), длиной приблизительно 18-22 нуклеотида, которые функционируют в качестве посттранскрипционных регуляторов экспрессии генов в клетках млекопитающих, которые работают через парное сопряжение с комплементарными последовательностями в молекулах матричных РНК (мРНК, mRNAs), обычно приводя к подавлению активности гена через трансляционную репрессию. МикроРНК задействованы в большинстве фундаментальных биологических процессах, таких как контроль клеточного цикла, клеточный метаболизм, апоптоз и иммунный ответ.

С момента их открытия в 1990-х годах, они изучались как биомаркеры для различных заболеваний, включая онкологию, сердечно-сосудистые заболевания, заболевания иммунной системы и др. [5, 6]. В свою очередь, микроРНК вызвали интерес как терапевтические мишени, поскольку они обладают рядом положительных свойств для развития их в качестве лекарств: одна микроРНК может регулировать сотни мишеней (мРНК) путем связывания с их 3'-нетранслируемыми областями; микроРНК имеют длину 18-22 нуклеотидов, что дает возможность для разработки препаратов на их основе;

микроРНК часто сохраняются между видами; такие терапевтические агенты могут быть доставлены *in vivo* через несколько систем доставки лекарственных средств, которые были одобрены для использования человеком [7, 8]. Несколько фармацевтических компаний проводили исследования по разработке микроРНК-терапии в течение последнего десятилетия, при этом несколько препаратов использовались в клинических испытаниях на людях как Миравирсен, RG-101, RG-125/AZD4076, MRX34 и TagomiRs [8, 9]. Эти исследования подтверждают возможность применения микроРНК-терапии для людей. Хотя большинство препаратов в текущих клинических испытаниях сосредоточены при онкологических заболеваниях, все большее число препаратов, основанных на микроРНК, такие как мимики (mimics) и антагомиры (antagomirs) (например, anti-miR-497, anti-Let-7f, anti-miR-181, anti-miR-15a/16-1, miR-23a mimic, miR-424 mimic, miR-124 mimic, miR-122 mimic и др.) были испытаны в экспериментальных моделях животных с ишемическим инсультом [10-17]. В этом обзоре обсуждается применение микроРНК-терапии и основополагающие механизмы повреждения центральной нервной системы (ЦНС) при ишемическом инсульте подробно в следующих разделах.

## Мимики и ингибиторы микроРНК

МикроРНК-мимики (miRNA mimics) представляют собой синтетические короткие двухцепочечные олигонуклеотиды, имитирующие предшественники микроРНК. После введения в клетки эти олигонуклеотиды могут быть распознаны механизмом биогенетизации микроРНК и обработаны соответствующим образом. Поскольку интересующая цепь (называемая ведущей, guide strand) должна быть идентична естественной зрелой микроРНК, микроРНК-мимики строятся с одной “направляющей нитью” и одной полностью или частично дополняющей “пассажирской нитью” [18].

Ингибиторы микроРНК (antagomirs, anti-miRs) ингибируют взаимодействие между микроРНК и микроРНК индуцированным белковым комплексом или между ним и его мРНК-мишенями [19]. Anti-miRs первоначально были разработаны как одноцепочечные антисмысловые олигонуклеотиды, которые нацелены на специфическую мРНК для блокирования синтеза белка или его разрушения

[18, 19]. Anti-miRs теперь относятся к модифицированным одноцепочечным антисмысловым олигонуклеотидам, имеющим полную или частичную комплементарную обратную последовательность зрелой микроРНК [8].

## Методы доставки лекарственных средств в ЦНС

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) ограничивает прямой доступ большинства агентов или лекарственных средств к тканям головного мозга или спинного мозга. Было разработано несколько методов доставки препаратов на основе микроРНК в ЦНС для лечения инсульта.

### *Интрацеребровентрикулярное введение (ИЦВ)*

ИЦВ, которое обходит ГЭБ, часто используется для доставки препаратов на основе микроРНК в головной мозг на экспериментальных моделях животных. МикроРНК-мимики, поставляемые с помощью ИЦВ инъекции в исследованиях, включают такие микроРНК как: miR-23a-3p, miR-let-7c-5p, miR-99a, miR-107, miR-207, miR-335, miR-424 и miR-378 [14, 15, 20-25]. Ингибиторы микроРНК, вводимые путем ИЦВ инъекции, включают: miR-497, miR-24, miR-let-7f, miR-200c, miR-155, miR-182, miR-493, miR-93, miR-150, miR-210 и miR-30-5p [10, 11, 26-34].

Хотя эти типы исследований удобны и обеспечивают хорошими результатами, они, вероятно, не будут использоваться в клинической практике в силу риска осложнений.

### *Инtrateкальное введение (эндолюмбальное)*

Инtrateкальное введение в субарахноидальное пространство часто используется для доставки лекарств, основанных на микроРНК, в поврежденный спинной мозг, вследствие ишемии. МикроРНК вводили инtrateкально у животных с ишемическими поражениями спинного мозга: miR-27a, miR-320a, miR-21, miR-497, miR-124 [35-38].

### *Внутривенные инъекции (в/в)*

Были разработаны методы для облегчения переноса микроРНК через ГЭБ, включая модификации мимиков и ингибиторов, доставку через полиэтиленгликоль (ПЭГ) лизосомы и другие методы. В/в инъекции имеют много преимуществ, включая легкость в применении, введение больших объемов, возможность для доставки агентов во все поврежденные ткани, и, что наиболее важно, они клинически применимы с небольшим риском осложнений. В/в инъекция anti-miR-155 уменьшала экспрессию эндогенного miR-155, способствовал ангиогенезу в головном мозге, и в результате уменьшил объемы повреждения в зоне ишемии у мышей после инсульта [39]. В/в введение других ингибиторов, включая miR-106-5p, miR-15a/16-1, miR-337-3p и в/в введение мимиков, включая miR-124, miR-9, miR-122, miR-93 и miR-363 уменьшили объемы

повреждений и улучшили неврологическую функцию у грызунов [13, 16, 40-45].

### *Интраназальное введение*

Интраназальное введение также является неинвазивным и потенциально клинически значимым подходом к доставке лекарств в ЦНС. Этот доступ позволяет избежать быстрого системного клиренса и потенциально снизить побочные эффекты. Пептиды, белки, антитела и даже стволовые клетки могут быть доставлены интраназально в исследованиях на животных для лечения повреждений ЦНС, включая инсульт. Например, интраназальное и ИЦВ введение ингибитора LNA-miR-210 через 4 часа после ишемии головного мозга у новорожденных крыс вызвало уменьшение объемов повреждений нервной ткани и улучшение неврологической функции в дальнейшем [33].

### *Вирус-опосредованная доставка*

Модифицированные аденоассоциированные вирусы и лентивирусы могут доставлять малые интерферирующие РНК/малые РНК в целевые геномы. Аналогичная вирусная сверхэкспрессия miR-29b, miR-424, miR-22, miR-210 и снижение экспрессии miR-30a и miR-134 улучшали исходы инсульта [15, 46-50]. Лентивирусное ингибирование miR-320 и miR-124 несли защитную функцию спинного мозга в экспериментах на модели ишемии/реперфузии и, вследствие этого, происходило восстановление двигательной функции задней конечности [51, 52]. Хотя исследования с вирусами могут обеспечиваться проверкой концепции, вероятность их применения в клинике маловероятно, ведь для экспрессии микроРНК таким доступом требуется некоторое время, и такие препараты должны быть введены еще задолго до нарушения мозгового кровообращения и его последствий.

### *Экзосомальная терапия*

Почти все клетки генерируют и выделяют в межклеточное пространство везикулы, и эти везикулы, называемые экзосомами, являются основными средствами межклеточной коммуникации. Экзосомы размером ~30-100 нм в диаметре несут свою функцию путем доставки белков, липидов и нуклеиновых кислот к клеткам-мишеням. Экзосомы являются ценным источником информации о патологии той или иной клетки, раскрывая стадию и прогрессирование заболевания и, тем самым, могут стать потенциальными биомаркерами при различных патофизиологических состояниях человека [53]. Однако, поскольку экзосомы являются основным средством межклеточной коммуникации, они, вероятно, также могут участвовать в лечении при различных заболеваниях. Экзосомы имеют низкую токсичность, высокую стабильность в кровообращении и высокую эффективность доставки в клетки-мишени. В недавних исследованиях указывается применение

ние экзосом в качестве персонализированных целевых транспортных средств для доставки лекарств. Экзосомы, полученные из мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (МСК), опосредуют терапевтический эффект МСК при ишемическом инсульте [54]. Экзосомы содержат различные подмножества микроРНК, в дополнение к другим однопочечным олигонуклеотидам, в зависимости от источника [53]. Экзосомы, полученные из МСК, могут быть обогащены конкретными микроРНК для восстановления определенных поврежденных структур ЦНС после инсульта. Системное введение экзосом приводит к уменьшению имеющихся неврологических повреждений у экспериментальных животных с инсультом, влияя на посттранскрипционном уровне на экспрессию генов и последующую экспрессию белка в их клетках-мишенях посредством передачи микроРНК. Такие экзосомы стимулируют эндогенные стволовые клетки мозга с последующим высвобождением микроРНК, в конечном счете, способствуя пластичности мозга после инсульта. Кроме того, МСК ингибируют активацию макрофагов путем распространения микроРНК-содержащих экзосом [55]. Экзосомы из МСК способствуют росту аксонов, а ингибирование белка Argonaut 2 (первичный белок биогенеза микроРНК), наоборот ингибирует аксональный рост, индуцированный этими экзосомами [56].

Взаимодействие МСК с нервной тканью регулирует рост аксонов путем переноса miR-133b в нервные клетки через экзосомы [57]. В исследованиях *in vitro* кластер miR-17-92 способствует олигодендрогенезу, нейрогенезу и аксональному росту [58]. Было показано, что сверхэкспрессия кластера miR-17-92 усиливала рост аксонов, что было связано с уменьшением белков фосфатазы и гомолога тензина (PTEN) в аксонах. Эти данные дают первое доказательство того, что изменение кластерной экспрессии miR-17-92 регулирует рост аксонов и уровни белка PTEN в растущих аксонах [59]. Экзосомы, содержащие miR-133b и miR-17-92, значительно повышали пластичность мозга и привели к регрессу неврологического дефицита после ишемического инсульта по сравнению с контрольной группой крыс, с внедренными экзосомами без этих микроРНК [58]. Данные *in vitro* также показывают, что экзосомы, содержащие в себе miR-133b и значительно увеличили рост аксонов в культивируемых первичных корковых нейронах [60].

Таким образом, данные *in vivo* и *in vitro* показывают, что модулирующее микроРНК-содержащие экзосомы могут быть эффективным терапевтическим средством для лечения инсульта и повреждений нервной ткани, а также дегенеративных заболеваний.

## МикроРНК-терапия при ишемическом инсульте

Для исследования терапевтических свойств микроРНК-мимиков против ишемического инсульта было проведено множество исследований. Ряд таких микроРНК защищают от ишемических повреждений в моделях животных, включая miR-29b, miR-17-92, miR-122, miR-124, miR-210, miR-424, miR-23a-3p, miR-139-5p, miR-let-7c-5p, miR-99a, miR-107, miR-207, miR-335, miR-22, miR-9, miR-378, miR-122, miR-93 и miR-363 [14-16, 20-25, 42-48, 58, 61, 62]. Эти микроРНК-мимики обычно существенно снижают объемы ишемического поражения и отек головного мозга, тем самым, улучшая неврологический статус и сокращение времени функционального восстановления. Например, сверхэкспрессия miR-29b, достигнутая путем ИЦВ введения miR-29b mimic, в животных моделях с окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА), уменьшала объемы инфаркта, отек, нарушения ГЭБ и улучшала восстановление функции ЦНС [46]. Получение сверхэкспрессии miR-124 путем введения модифицированных липосом и экзосом, содержащих в себе miR-124 mimic, до или после ОСМА, значительно уменьшала объемы инфаркта и неврологические нарушения у мышей, а также возросла выживаемость нейронов и нейрососудистое ремоделирование [16, 61]. Использование miR-424 mimic с лентивирусом уменьшил размеры инфаркта и отек головного мозга после ОСМА, путем ингибирования апоптоза нейронов, подавляя активацию микроглии и окислительного стресса [15].

ИЦВ инъекция let-7c-5p mimic уменьшает объемы ишемического поражения и имеющиеся неврологические повреждения, подавляя активацию микроглии и каспазы-3 [20]. Кроме того, ИЦВ инъекция miR-122 mimic не только уменьшал объем инфаркта головного мозга, но и поддерживал целостность сосудов и ослаблял синтез провоспалительных цитокинов [43]. При ИЦВ введении miR-363 mimic после ОСМА происходило уменьшение объема инфаркта, сохранение целостности сосудов переднего мозга, а также улучшение сенсомоторной функции у самок крыс в отличие от самцов [45].

С другой стороны, ряд ингибиторов микроРНК были также проверены на животных с ишемическим инсультом. Использование ингибиторов для таких микроРНК, как miR-497, miR-let-7f, miR-181a, miR-134, miR-200c, miR-155, miR-335, miR-24, miR-182, miR-493, miR-93, miR-210, miR-106b-5p, miR-15a/16-1 и miR-337-3p уменьшала объемы инфаркта, отек, воспалительный процесс и апоптоз нейронов [10-13, 24, 26-31, 33, 40, 41, 50]. ИЦВ введение anti-miR-320a сразу после ОСМА уменьшило зону ишемии и отек головного мозга у крыс с инсультом, которая взаимосвязана с понижением экспрессии их мишеней мРНК аквапоринов 1 и 4 (AQP 1,4) [63].



В одной из работ сообщается, что ИЦВ введение anti-miR-497 снижает экспрессию специфического для нервных клеток головного мозга miR-497, который непосредственно связан с антиапоптотическими белками В-клеточной лимфомы — 2,w (Bcl-2 и Bcl-w), в результате уменьшив объемы поражения и положительно повлияв на исход у мышей после ишемического инсульта [10]. Аналогичным образом anti-miR-let-7f уменьшил зону ишемии в коре и в области базальных ядер головного мозга, сохраняя сенсомоторную функцию у самок крыс, но не у самцов или у самок с овариэктомией после инсульта [11]. Ингибирование miR-181a у мышей с инсультом приводило к увеличению экспрессии глюкозрегулируемого белка 78 кДа и антиапоптотических белков, уменьшив воспалительный процесс и угнетение апоптоза [12]. Применение ингибиторов miR-155 и miR-493 приводило к улучшению мозгового кровообращения и ангиогенезу после инсульта у крыс [28, 30]. Системное введение anti-miR-106b-5p уменьшало объемы инфаркта, которое было связано с ингибированием апоптоза и окислительного стресса после инсульта. Было показано, что ИЦВ введение anti-miR-15a/16-1 уменьшает объемы инфаркта и отек головного мозга, которые коррелируют с повышением активности антиапоптотических белков и снижением провоспалительных цитокинов [13].

В дополнение к мимикам и ингибиторам микроРНК, терапевтические средства при поражениях ЦНС после инсульта, основанные на микроРНК, могут также включать фармакологические агенты, которые оказывают нейропротекцию посредством регуляции функциональных микроРНК. Активация сигнального пути Толл-подобного рецептора усугубляет ишемическое повреждение головного мозга. В одном исследовании проверена гипотеза о том, что комбинированная терапия с VELCADE (Бортезомибом) и тканевым активатором плазминогена контролирует сигнальный путь Толл-подобный рецептор через активацию miR-146a на сосудистую сеть мозга, что приводит к нейропротекции у пожилых крыс после инсульта [64].

В ряде исследований было показано терапевтическое воздействие нескольких фармакологических агентов, в т.ч. ацетилбританнилактона, никорандила, сероводорода (H<sub>2</sub>S), во взаимодействии со специфическими микроРНК, поскольку влияние мимиков или ингибиторов на эти микроРНК могут полностью отменить положительные эффекты этих агентов на поврежденную ЦНС после инсульта [65-67]. Например, предварительная обработка H<sub>2</sub>S уменьшала зону повреждения в спинном мозге и улучшала двигательную функцию задней конечности путем подавления экспрессии miR-30c ингибитором anti-miR-30c в модели ишемии/реперфу-

зии у крыс. А предварительная обработка miR-30c mimic отменила положительный эффект H<sub>2</sub>S на поврежденный спинной мозг [67].

### Временные окна и дозировка

В зависимости от исследовательской работы, препараты, основанные на микроРНК, вводили в различные моменты времени после ОСМА. Если препарат имеет короткий период полувыведения, могут потребоваться множественные инъекции или непрерывные инфузии. Поскольку в/в инъекции являются клинически значимым методом, в большинстве таких исследований препараты с микроРНК вводились в диапазоне с 5 мин до 4,5 ч после ОСМА, считающимся терапевтическим окном для использования тромболизиса у людей и в течение этого времени есть шанс восстановление кровотока в зоне пенумбры. Вирус-опосредованная доставка микроРНК мимиков или ингибиторов требует времени для изменения экспрессии микроРНК в исследуемом организме и, таким образом, может вводиться от 1 до 14 дней до ОСМА.

Дозировка препаратов должна оказывать значительное влияние на исследуемые гены-мишени, причем мимики обычно увеличивают экспрессию, а ингибиторы уменьшают экспрессию исследуемых целей. Период полураспада должен быть оценен, чтобы определить, необходимы ли многократные инъекции или инфузии. Фактически дозировка зависит от способов доставки и видового отличия животных моделей. Для внутрижелудочковых инъекций у мышей концентрация составляла от 3 пмоль/мл до 100 пмоль/мл, с одной ИЦВ инъекцией <10 мл с последующей непрерывной инфузией 1 мл/ч в течение 72-120 ч [68]. Для ИЦВ инъекций у крыс концентрации варьируют от 5 пмоль/мл до 25 нмоль/мл с аналогичными объемами, как и у мышей. Для в/в инъекций 50-100 мл у мышей после ОСМА концентрации варьировали от 30 пмоль/г до 10-25 мг/г [41, 69]. Для крыс были использованы аналогичные объемы препаратов с концентрациями 0,6-7 мг/кг. Дозировка вирус-опосредованной доставки препаратов, несущих мимики или ингибиторы микроРНК, определяются эмпирически [48].

### Патогенетическая терапия ишемического инсульта микроРНК-терапии

#### Эксайтотоксичность

В настоящее время ряд экспериментальных работ доказывает, что микроРНК-терапия ослабляет эксайтотоксичность после ишемического инсульта. Например, повышенная экспрессия miR-223 в гиппокампе, связанная с модифицированными аденоассоциированными вирусами, понижала уровни глутаматного рецептора 2 и субъединиц рецептора глутамата, селективно связывающего

N-метил-D-аспартат, ингибируя индуцированный приток кальция в нейронах гиппокампа и, тем самым, защитив мозг от гибели нейронов после кратковременной глобальной ишемии [70]. Применение anti-miR-181a предотвратило снижение глутамата 1 и уменьшение астроцитарной дисфункции, что привело к увеличению выживаемости нейронов в области СА1 (первый слой гиппокампа, состоящий из плотного ряда пирамидальных клеток) гиппокампа [71].

#### **Апоптоз**

Некоторые агенты на основе микроРНК уменьшают апоптоз клеток, уменьшая экспрессию проапоптотических белков: например, ассоциированный с X белком В-клеточная лимфома-2 (Bax или BCL2-associated X protein) и/или увеличивая экспрессию антиапоптотических белков, например, антиапоптотический белок В-клеточной лимфомы-2 (Bcl-2), антиапоптотический белок В-клеточной лимфомы-w (Bcl-w), антиапоптотический белок В-клеточной лимфомы-xl (Bcl-xl). Ингибиторы miR-24, miR-15a/16-1, miR-106b-5p увеличивают уровни экспрессии белка Bcl-2/-w/-xl в нейронах головного мозга, уменьшая объемы инфаркта и улучшая исходы после инсульта на животных моделях [16, 40, 71]. Ингибитор miR-124 уменьшал объемы поражения ишемической ткани у мышей модели ОСМА путем ингибирования проапоптотических белков семейства p53 (iASPP) [72].

#### **Окислительный стресс**

Под воздействием miR-23a-3p mimic уменьшается продукция оксида азота и 3-нитротирозина и происходит повышение экспрессии марганцевой супероксиддисмутазы, что в итоге уменьшает окислительный стресс в модели ОСМА у мышей [14]. Применение anti-miR-93 приводит к снижению объема инфаркта и улучшает неврологическую функцию, которая коррелировала с повышенным уровнем экспрессии транскрипционного фактора Nrf2 и его геном-гемоксигеназой-1 [31].

#### **Воспалительный процесс**

Многие агенты на основе микроРНК являются противовоспалительными. В частности, большинство противовоспалительных механизмов включают в себя подавление активации астроцитов, микроглии, синтеза цитокинов и экстравазации лейкоцитов. Например, избыточная экспрессия miR-424 и miR-let-7c-5p уменьшает объем инфаркта и улучшает неврологическую функцию, частично путем ингибирования активации астроцитов после инсульта [20, 73]. Сверхэкспрессия miR-22 и miR-122 или сниженная экспрессия miR-15a/16-1, достигнутая путем применения антагомиров или ингибиторов целевых микроРНК (Anti-miR) и мимиков или агонистов целевых микроРНК (MiR mimic),

уменьшает выраженность воспалительных молекул фактора некроза опухоли-альфа, интерлейкина-6, моноцитарного хемотаксического протеина-1, циклооксигиназы-2, синтазы оксида азота и сосудистой молекулы клеточной адгезии 1 в головном мозге после инсульта [13, 43].

#### **Сохранность ГЭБ**

Повреждение ГЭБ после инсульта способствует проникновению цитокинов, хемокинов, других воспалительных молекул и лейкоцитов, которые могут способствовать повреждению тканей и отеку. Весь этот каскад может быть смягчен некоторыми микроРНК. Снижение экспрессии miR-150 путем его ингибирования стабилизирует белок плотных контактов-1, и увеличивает экспрессию белка клаудин-5, который в результате улучшает функцию ГЭБ после инсульта [32]. Препараты anti-miR-320 и anti-miR-130 стабилизируют функцию аквапоринов после инсульта (AQP4), которые вовлечены в патогенез отека головного мозга [74, 75]. Применение miR-320a mimic у крыс с реперфузионным синдромом после ишемии спинного мозга уменьшает отек посредством отрицательного регулирования AQP1, тем самым положительно влияя на исход инсульта [36].

#### **Нейрогенез**

Нейрогенез, который происходит во многих областях мозга после инсульта, включая субвентрикулярную зону, субгранулярный слой, зубчатую извилину в гиппокампе, кору головного мозга и белое вещество спинного мозга, частично контролируется через микроРНК. Сверхэкспрессия кластера miR-17-92 в субвентрикулярной зоне значительно увеличивает пролиферацию нейрональных стволовых клеток, и способствует нейрогенезу после инсульта путем ингибирования его целевого гена PTEN и, следовательно, увеличение фосфорилирования протеин киназы B, являющийся мишенью рапамицина и гликогенсинтазы киназы 3b [76].

#### **Ангиогенез**

Ангиогенез, образование новых кровеносных сосудов, может способствовать восстановлению после инсульта, который так же находится под контролем микроРНК. Применение miR-107 mimic на крысах после ОСМА уменьшил объем инфаркта в головном мозге, и привел к увеличению числа капилляров в полутени путем повышения экспрессии фактора роста эндотелия сосудов 165/164 [22].

## **Заключение**

Обнаружение большего количества микроРНК, связанных с патогенезом инсульта, может привести к разработке комбинированной терапии, включающей регуляцию экспрессии микроРНК.

Следует проявлять определенную осторожность в отношении возможных побочных эффектов от микроРНК в испытаниях на человеке, с особым

упором на безопасность, переносимость и эффективность лечения. Например, фактически, системное ингибирование miR-155 может влиять на функцию иммунной системы и отрицательно влиять на восстановление после инсульта у людей.

Оптимальная доза и время терапевтического вмешательства с конкретными ингибиторами или мимиками микроРНК должны быть тщательно определены, чтобы избежать любого деструктивного вмешательства в процесс естественной регенерации. Этот подход в такой терапии должен основываться на знаниях о специфической функции микроРНК, включая ее влияние на жизнеспособность, пролиферацию и дифференциацию клеточного компонента ЦНС.

## Литература/References

- Mendis S, Davis S, Norving B. Organizational update: the world health organization global status report on noncommunicable diseases 2014; one more landmark step in the combat against stroke and vascular disease. *Stroke*. 2015;46:e121-2. doi:10.1161/STROKEAHA.115.008097.
- Zhang R, Zhang Z, Chopp M. Function of neural stem cells in ischemic brain repair processes. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36:2034-43. doi:10.1177/0271678X16674487.
- Stylli SS, Adamides AA, Koldej RM, et al. MiRNA expression profiling of cerebrospinal fluid in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2017;126(4):1131-9. doi:10.3171/2016.1.JNS151454.
- Powers CJ, Dickerson R, Zhang SW, et al. Human cerebrospinal fluid microRNA: temporal changes following subarachnoid hemorrhage. *Physiol Genomics*. 2016;48(5):361-6. doi:10.1152/physiolgenomics.00052.2015.
- Hayes J, Peruzzi PP and Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. *Trends Mol Med*. 2014;20:460-9. doi:10.1016/j.molmed.2014.06.005.
- Jickling GC, Ander BP, Zhan X, et al. MicroRNA expression in peripheral blood cells following acute ischemic stroke and their predicted gene targets. *PLoS One*. 2014;9:e99283. doi:10.1371/journal.pone.0099283.
- Christopher AF, Kaur RP, Kaur G, et al. MicroRNA therapeutics: discovering novel targets and developing specific therapy. *Perspect Clin Res*. 2016;7:68-74. doi:10.4103/2229-3485.179431.
- Rupaimoole R and Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16:203-22. doi:10.1038/nrd.2016.246.
- Schmidt MF. Drug target miRNAs: chances and challenges. *Trends Biotechnol*. 2014;32:578-85. doi:10.1016/j.tibtech.2014.09.002.
- Yin KJ, Deng Z, Huang H, et al. MiR-497 regulates neuronal death in mouse brain after transient focal cerebral ischemia. *Neurobiol Dis*. 2010;38:17-26. doi:10.1016/j.nbd.2009.12.021.
- Selvamani A, Sathyan P, Miranda RC, et al. An antagomir to microRNA Let7f promotes neuroprotection in an ischemic stroke model. *PLoS One*. 2012;7:e32662. doi:10.1371/journal.pone.0032662.
- Ouyang YB, Lu Y, Yue S, et al. miR-181 regulates GRP78 and influences outcome from cerebral ischemia *in vitro* and *in vivo*. *Neurobiol Dis*. 2012;45:555-63. doi:10.1016/j.nbd.2011.09.012.
- Yang X, Tang X, Sun P, et al. MicroRNA-15a/16-1 antagomir ameliorates ischemic brain injury in experimental stroke. *Stroke*. 2017;48:1941-7. doi:10.1161/STROKEAHA.117.017284.
- Zhao H, Tao Z, Wang R, et al. MicroRNA-23a-3p attenuates oxidative stress injury in a mouse model of focal cerebral ischemia-reperfusion. *Brain Res*. 2014;1592:65-72. doi:10.1016/j.brainres.2014.09.055.
- Liu P, Zhao H, Wang R, et al. MicroRNA-424 protects against focal cerebral ischemia and reperfusion injury in mice by suppressing oxidative stress. *Stroke*. 2015;46:513-9. doi:10.1161/STROKEAHA.114.007482.
- Sun Y, Gui H, Li Q, et al. MicroRNA-124 protects neurons against apoptosis in cerebral ischemic stroke. *CNS Neurosci Ther*. 2013;19:813-9. doi:10.1111/cns.12142.
- Liu DZ, Jickling GC, Ander BP, et al. Elevating microRNA-122 in blood improves outcomes after temporary middle cerebral artery occlusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36:1374-83. doi:10.1177/0271678X15610786.
- Krützfeldt J. Strategies to use microRNAs as therapeutic targets. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2016 Oct;30(5):551-61. doi:10.1016/j.beem.2016.07.004.
- Zhang Y, Wang Z and Gemeinhart RA. Progress in microRNA delivery. *J Control Release*. 2013;172:962-74. doi:10.1016/j.jconrel.2013.09.015.
- Ni J, Wang X, Chen S, et al. MicroRNA let-7c-5p protects against cerebral ischemia injury via mechanisms involving the inhibition of microglia activation. *Brain Behav Immun*. 2015;49:75-85. doi:10.1016/j.bbi.2015.04.014.
- Tao Z, Zhao H, Wang R, et al. Neuroprotective effect of microRNA-99a against focal cerebral ischemia-reperfusion injury in mice. *J Neurol Sci*. 2015;355:113-9. doi:10.1016/j.jns.2015.05.036.
- Li Y, Mao L, Gao Y, et al. MicroRNA-107 contributes to post-stroke angiogenesis by targeting Dicer-1. *Sci Rep*. 2015;5:13316. doi:10.1038/srep13316.
- Tao J, Liu W, Shang G, et al. MiR-207/352 regulate lysosomal-associated membrane proteins and enzymes following ischemic stroke. *Neuroscience*. 2015;305:1-14. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.07.064.
- Liu FJ, Kaur P, Karolina DS, et al. MiR-335 regulates hif-1alpha to reduce cell death in both mouse cell line and rat ischemic models. *PLoS One*. 2015;10:e0128432. doi:10.1371/journal.pone.0128432.
- Zhang N, Zhong J, Han S, et al. MicroRNA-378 alleviates cerebral ischemic injury by negatively regulating apoptosis executioner caspase-3. *Int J Mol Sci*. 2016;17:1427. doi:10.3390/ijms17091427.
- Liu W, Chen X, Zhang Y. Effects of microRNA-21 and microRNA-24 inhibitors on neuronal apoptosis in ischemic stroke. *Am J Transl Res*. 2016;8:3179-87.
- Stary CM, Xu L, Sun X, et al. MicroRNA-200c contributes to injury from transient focal cerebral ischemia by targeting reelin. *Stroke*. 2015;46:551-6. doi:10.1161/STROKEAHA.114.007041.
- Xing G, Luo Z, Zhong C, et al. Influence of miR-155 on cell apoptosis in rats with ischemic stroke: role of the ras homolog enriched in brain (Rheb)/mTOR pathway. *Med Sci Monit*. 2016;22:5141-53. doi:10.12659/MSM.898980.
- Yi H, Huang Y, Yang F, et al. MicroRNA-182 aggravates cerebral ischemia injury by targeting inhibitory member of the ASPP family (iASPP). *Arch Biochem Biophys*. 2017;620:52-8. doi:10.1016/j.abb.2016.05.002.
- Li Q, He Q, Baral S, et al. MicroRNA-493 regulates angiogenesis in a rat model of ischemic stroke by targeting MIF. *FEBS J* 2016;283:1720-33. doi:10.1111/febs.13697.
- Wang P, Liang X, Lu Y, et al. MicroRNA-93 downregulation ameliorates cerebral ischemic injury through the Nrf2/HO-1 defense pathway. *Neurochem Res*. 2016;41:2627-35. doi:10.1007/s11064-016-1975-0.
- Fang Z, He QW, Li Q, et al. MicroRNA-150 regulates blood-brain barrier permeability via Tie-2 after permanent middle cerebral artery occlusion in rats. *FASEB J*. 2016;30:2097-107. doi:10.1096/fj.201500126.
- Ma Q, Dasgupta C, Li Y, et al. Inhibition of microRNA-210 provides neuroprotection in hypoxicischemic brain injury in neonatal rats. *Neurobiol Dis*. 2016;89:202-12. doi:10.1016/j.nbd.2016.02.011.
- Zhao F, Qu Y, Zhu J, et al. miR-30d-5p plays an important role in autophagy and apoptosis in developing rat brains after hypoxic-ischemic injury. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2017;76:709-19. doi:10.1093/jnen/nlx052.
- Li XQ, Lv HW, Wang ZL, et al. MiR-27a ameliorates inflammatory damage to the blood-spinal cord barrier after spinal cord ischemia: reperfusion injury in rats by downregulating TICAM-2 of the TLR4 signaling pathway. *J Neuroinflammation*. 2015;12:25. doi:10.1186/s12974-015-0246-3.
- Li XQ, Fang B, Tan WF, et al. MiR-320a affects spinal cord edema through negatively regulating aquaporin-1 of blood-spinal cord barrier during bimodal stage after ischemia reperfusion injury in rats. *BMC Neurosci*. 2016;17:10. doi:10.1186/s12868-016-0243-1.
- He F, Ren Y, Shi E, et al. Overexpression of microRNA-21 protects spinal cords against transient ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2016;152:1602-8. doi:10.1016/j.jtcvs.2016.07.065.

38. Xu M, Wang HF, Zhang YY, et al. Protection of rats spinal cord ischemia-reperfusion injury by inhibition of MiR-497 on inflammation and apoptosis: possible role in pediatrics. *Biomed Pharmacother.* 2016;81:337-44. doi:10.1016/j.biopha.2016.04.028.
39. Caballero-Garrido E, Pena-Philippides JC, Lordkipanidze T, et al. In vivo inhibition of miR-155 promotes recovery after experimental mouse stroke. *J Neurosci.* 2015;35:12446-64. doi:10.1186/s12974-016-0753-x.
40. Li P, Shen M, Gao F, et al. An antagomir to microRNA-106b-5p ameliorates cerebral ischemia and reperfusion injury in rats via inhibiting apoptosis and oxidative stress. *Mol Neurobiol.* 2017;54:2901-21. doi:10.1007/s12035-016-9842-1.
41. Wang X, Suofu Y, Akpinar B, et al. Systemic anti-miR-337-3p delivery inhibits cerebral ischemia-mediated injury. *Neurobiol Dis.* 2017;105:156-63. doi:10.1016/j.nbd.2017.04.018.
42. Wei N, Xiao L, Xue R, et al. MicroRNA-9 mediates the cell apoptosis by targeting Bcl2l11 in ischemic stroke. *Mol Neurobiol.* 2016;53:6809-17. doi:10.1007/s12035-015-9605-4.
43. Liu da Z, Jickling GC, Ander BP, et al. Elevating microRNA-122 in blood improves outcomes after temporary middle cerebral artery occlusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016;36:1374-83. doi:10.1177/0271678X15610786.
44. Tian F, Yuan C, Hu L, et al. MicroRNA-93 inhibits inflammatory responses and cell apoptosis after cerebral ischemia reperfusion by targeting interleukin-1 receptor-associated kinase 4. *Exp Ther Med.* 2017;14:2903-10. doi:10.3892/etm.2017.4874.
45. Selvamani A, Sohrabji F. Mir363-3p improves ischemic stroke outcomes in female but not male rats. *Neurochem Int.* 2017;107:168-81. doi:10.1016/j.neuint.2016.10.008.
46. Wang Y, Huang J, Ma Y, et al. MicroRNA-29b is a therapeutic target in cerebral ischemia associated with aquaporin 4. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015;35:1977-84. doi:10.1038/jcbfm.2015.156.
47. Yu H, Wu M, Zhao P, et al. Neuroprotective effects of viral overexpression of microRNA-22 in rat and cell models of cerebral ischemia-reperfusion injury. *J Cell Biochem.* 2015;116:233-41. doi:10.1002/jcb.24960.
48. Zeng LL, He XS, Liu JR, et al. Lentivirus-Mediated overexpression of microRNA-210 improves long-term outcomes after focal cerebral ischemia in mice. *CNS Neurosci Ther.* 2016;22:961-9. doi:10.1111/cons.12589.
49. Wang P, Liang J, Li Y, et al. Down-regulation of miRNA-30a alleviates cerebral ischemic injury through enhancing beclin 1-mediated autophagy. *Neurochem Res.* 2014;39:1279-91. doi:10.1007/s11064-014-1310-6.
50. Chi W, Meng F, Li Y, et al. Impact of microRNA-134 on neural cell survival against ischemic injury in primary cultured neuronal cells and mouse brain with ischemic stroke by targeting HSPA12B. *Brain Res.* 2014;1592:22-33. doi:10.1016/j.brainres.2014.09.072.
51. He F, Shi E, Yan L, et al. Inhibition of micro-ribonucleic acid-320 attenuates neurologic injuries after spinal cord ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015;150:398-406. doi:10.1016/j.jtcvs.2015.03.066.
52. Liu K, Yan L, Jiang X, et al. Acquired inhibition of microRNA-124 protects against spinal cord ischemiareperfusion injury partially through a mitophagy-dependent pathway. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2017;154:1498-508. doi:10.1016/j.jtcvs.2017.05.046.
53. Javeed N, Mukhopadhyay D. Exosomes and their role in the micro-/macro-environment: a comprehensive review. *J Biomed Res.* 2017;31:386-94. doi:10.7555/JBR.30.20150162.
54. Luarte A, Bätz LF, Wyneken U, Lafourcade C. Potential therapies by stem cell-derived exosomes in CNS diseases: focusing on the neurogenic niche. *Stem Cells Int.* 2016;2016:5736059. doi:10.1155/2016/5736059.
55. Phinney DG, Di Giuseppe M, Njah J, et al. Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs. *Nat Commun.* 2015;6:8472. doi:10.1038/ncomms9472.
56. Zhang Y, Chopp M, Liu XS, et al. Exosomes derived from mesenchymal stromal cells promote axonal growth of cortical neurons. *Mol Neurobiol.* 2017;54:2659-73. doi:10.1007/s12035-016-9851-0.
57. Xin H, Li Y, Buller B, et al. Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth. *Stem Cells.* 2012;30:1556-64. doi:10.1002/stem.1129.
58. Xin H, Katakowski M, Wang F, et al. MicroRNA cluster miR-17-92 cluster in exosomes enhance neuroplasticity and functional recovery after stroke in rats. *Stroke.* 2017;48:747-53. doi:10.1161/STROKEAHA.116.015204.
59. Zhang Y, Ueno Y, Liu XS, et al. The microRNA-17-92 cluster enhances axonal outgrowth in embryonic cortical neurons. *J Neurosci.* 2013;33:6885-94. doi:10.1523/JNEUROSCI.5180-12.2013.
60. Xin H, Wang F, Li Y, et al. Secondary release of exosomes from astrocytes contributes to the increase in neural plasticity and improvement of functional recovery after stroke in rats treated with exosomes harvested from microRNA 133b-overexpressing multipotent mesenchymal stromal cells. *Cell Transplant.* 2017;26:243-57. doi:10.3727/096368916X693031.
61. Hamzei Taj S, Kho W, Riou A, et al. MiRNA-124 induces neuroprotection and functional improvement after focal cerebral ischemia. *Biomaterials.* 2016;91:151-65. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.03.025.
62. Qu Y, Wu J, Chen D, et al. MiR-139-5p inhibits HGTD-P and regulates neuronal apoptosis induced by hypoxia-ischemia in neonatal rats. *Neurobiol Dis.* 2014;63:184-93. doi:10.1016/j.nbd.2013.11.023.
63. Sepramaniam S, Armugam A, Lim KY, et al. MicroRNA 320a functions as a novel endogenous modulator of aquaporins 1 and 4 as well as a potential therapeutic target in cerebral ischemia. *J Biol Chem.* 2010;285:29223-30. doi:10.1074/jbc.M110.144576.
64. Zhang L, Chopp M, Liu X, et al. Combination therapy with VELCADE and tissue plasminogen activator is neuroprotective in aged rats after stroke and targets microRNA-146a and the toll-like receptor signaling pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32:1856-64. doi:10.1161/ATVBAHA.112.252619/-/DC1.
65. Wen Y, Zhang X, Dong L, et al. Acetylbritannilactone modulates microRNA-155-mediated inflammatory response in ischemic cerebral tissues. *Mol Med.* 2015;21:197-209. doi:10.2119/molmed.2014.00199.
66. Dong YF, Chen ZZ, Zhao Z, et al. Potential role of microRNA-7 in the anti-neuroinflammation effects of nicorandil in astrocytes induced by oxygen-glucose deprivation. *J Neuroinflammation.* 2016;13:60. doi:10.1186/s12974-016-0527-5.
67. Li L, Jiang HK, Li YP, et al. Hydrogen sulfide protects spinal cord and induces autophagy via miR-30c in a rat model of spinal cord ischemia-reperfusion injury. *J Biomed Sci.* 2015;22:50. doi:10.1186/s12929-015-0135-1.
68. Yao S, Tang B, Li G, et al. miR-455 inhibits neuronal cell death by targeting TRAF3 in cerebral ischemic stroke. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016;12:3083-92. doi:10.2147/NDT.S121183.
69. Xu LJ, Ouyang YB, Xiong X, et al. Post-stroke treatment with miR-181 antagomir reduces injury and improves long-term behavioral recovery in mice after focal cerebral ischemia. *Exp Neurol.* 2015;264:1-7. doi:10.1016/j.expneurol.2014.11.007.
70. Harraz MM, Eacker SM, Wang X, et al. MicroRNA-223 is neuroprotective by targeting glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109:18962-7. doi:10.1073/pnas.1121288109.
71. Moon JM, Xu L and Giffard RG. Inhibition of microRNA-181 reduces forebrain ischemia-induced neuronal loss. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013;33:1976-82. doi:10.1038/jcbfm.2013.157.
72. Liu X, Li F, Zhao S, et al. MicroRNA-124-mediated regulation of inhibitory member of apoptosis-stimulating protein of p53 family in experimental stroke. *Stroke.* 2013;44:1973-80. doi:10.1161/STROKEAHA.111.000613.
73. Zhao H, Wang J, Gao L, et al. MiRNA-424 protects against permanent focal cerebral ischemia injury in mice involving suppressing microglia activation. *Stroke.* 2013;44:1706-13. doi:10.1161/STROKEAHA.111.000504.
74. Sepramaniam S, Armugam A, Lim KY, et al. MicroRNA 320a functions as a novel endogenous modulator of aquaporins 1 and 4 as well as a potential therapeutic target in cerebral ischemia. *J Biol Chem.* 2010;285:29223-30. doi:10.1074/jbc.M110.144576.
75. Sepramaniam S, Ying LK, Armugam A, et al. MicroRNA-130a represses transcriptional activity of aquaporin 4 M1 promoter. *J Biol Chem.* 2012;287:12006-15. doi:10.1074/jbc.M111.280701.
76. Xin H, Katakowski M, Wang F, et al. MicroRNA cluster miR-17-92 cluster in exosomes enhance neuroplasticity and functional recovery after stroke in rats. *Stroke.* 2017;48:747-53. doi:10.1161/STROKEAHA.116.015204.