

ЗАСТОСУВАННЯ АУТОЛОГІЧНИХ КЛІТИН У ВІДНОВЛЕННІ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ДЕФЕКТІВ У ХВОРИХ З ІШЕМІЧНИМ ПОРУШЕННЯМ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

Є.Г. ПЕДАЧЕНКО, В.В. МОРОЗ, В.А. ЯЦИК,
У.І. МАЛЯР, Л.Д. ЛЮБИЧ, Д.М. ЄГОРОВА

ДУ «Інститут нейрохірургії імені акад. А.П. Ромоданова НАМН України», м. Київ

***Conflict of Interest Statement (We declare that we have no conflict of interest).**

*Заява про конфлікт інтересів (Ми заявляємо, що у нас немає ніякого конфлікту інтересів).

*Заявление о конфликте интересов (Мы заявляем, что у нас нет никакого конфликта интересов).

***No human/animal subjects policy requirements or funding disclosures.**

*Жодний із об'єктів дослідження (людина/тварина) не підпадає під вимоги політики щодо розкриття інформації фінансування.

*Ни один из объектов исследования не подпадает под политику раскрытия информации финансирования.

***Date of submission — 22.08.20**

*Дата подачі рукопису — 22.08.20

*Дата подачі рукописи — 22.08.20

***Date of acceptance — 09.09.20**

*Дата ухвалення — 09.09.20

*Дата одобрения к печати — 09.09.20

Інсульт є глобальною медичною і соціально-економічною проблемою, що зумовлює потребу в альтернативних способах лікування, провідне місце серед яких посідає клітинна терапія із застосуванням стовбурових клітин (СК). Патогенетичні процеси при ішемічному інсульті (ІІ) запускають механізми некротичної та апоптичної загибелі нейронів з формуванням центральної зони інфаркту («ядро ішемії») та зони «пенумбри» (ішемічної «напівтіні»). Тяжкість і зворотність ушкодження залежать безпосередньо від тривалості ішемії. Паралельно з патогенетичними процесами відбувається ендогенний нейрогенез – проліферація нейрогенних стовбурових і прогеніторних клітин та їх міграція в ішемічне вогнище, але більшість нейрогенних СК і новоутворених нейронів піддаються апоптозу і відновлення втрачених функцій не відбувається. Значні зусилля спрямовані на пошук шляхів керування нейрогенезом, зокрема за допомогою трансплантації екзогенних СК. Основні чинники, які перешкоджають застосуванню СК у людини, – морально-етичні, релігійні та юридичні аспекти, пов'язані з джерелом і методом отримання клітин, а також ймовірні імунозумовлені ускладнення через несумісність донорських клітин з реципієнтом за антигенами головного комплексу гістосумісності. Найбезпечнішим є використання аутологічних СК (власних клітин пацієнта), оскільки не потребує застосування протоколів імуносупресії. Завдяки відносній безпечності та простоті отримання, найбільше поширення отримали мультипотентні мезенхімальні СК (МСК), а саме МСК кісткового мозку (КМ). Численні доклінічні дослідження на експериментальних тваринах із змодельованим ІІ, а також прове-

дені впродовж останніх 15 років клінічні випробування засвідчили безпечність і доцільність трансплантації автологічних МСК КМ у хворих з тяжким неврологічним дефіцитом після ІІ. Обговорюють два підходи до застосування МСК: нейропротекцію в гострій фазі та нейрореставрацію в хронічній фазі ІІ. Розробляються пропозиції щодо ІІ/ІІІ фаз клінічних випробувань при гострому та хронічному інсульті із застосуванням МСК КМ, результати яких стануть підґрунтям для сертифікованих стандартизованих протоколів лікування ІІ.

Ключові слова: ішемічний інсульт; автологічна трансплантація; мезенхімальні стовбурові клітини; кістковий мозок; клінічні випробування.

Перелік скорочень

ГЕБ	Гематоенцефалічний бар'єр
ЕСК	Ембріональні стовбурові клітини
ІІ	Ішемічний інсульт
КМ	Кістковий мозок
МСК	Мезенхімальні стовбурові клітини
НСК	Нейрогенні стовбурові клітини
СК	Стовбурові клітини

Інсульт є провідною причиною захворюваності та смертності в світі з дуже великими витратами на охорону здоров'я і соціальну допомогу, що зумовлює потребу в альтернативних терапевтичних підходах [1]. Щороку в світі реєструють близько 13,7 млн нових інсультів. За прогнозами, у кожній четвертій особі віком понад 25 років протягом життя відбудеться інсульт [2]. В Україні щороку реєструють до 100 тис. інсультів, смертність від інсультів перевищує вдвічі показники розвинених європейських країн [3, 4]. Висока інвалідизація хворих, які перенесли інсульт (лише у 10–15 % відновлюється працездатність, решта потребують догляду 1–2 працездатних родичів), зумовлює соціально-економічну значущість цієї проблеми. Найпоширенішим (близько 80 %) серед інсультів є церебральний ішемічний інсульт (ІІ) [5]. Нині у світі понад 67,5 млн осіб, які пережили ІІ, з них 61 % не досягли 70 років [2].

Лікування ІІ потребує комплексного підходу. Сучасні протокольні методи мають від-

носні та абсолютні протипоказання і ризик ускладнень [6], тому перспективними є альтернативні терапевтичні розробки, провідне місце серед яких посідає клітинна терапія із застосуванням стовбурових клітин (СК).

Патогенетичні передумови використання стовбурових клітин у лікуванні наслідків ішемічного інсульту

В основі патогенезу ІІ лежать стеноз, тромбоз, емболія та оклюзія внутрішньо- і позачерепних судин. У патогенезі ІІ виділяють три стадії: 1) гостру (некроз та набряк) – перші 24 год, 2) підгостру (інфільтрація клітинами запалення – 2–7 днів, 3) хронічну (гліофіброз) – 2–8 тиж [7]. У гострій стадії внаслідок гіпоксемії та гіпоергозу клітин у вогнищі ішемії розвивається пусковий механізм некротичної І апоптичної загибелі нейронів. Формується центральна зона інфаркту («ядро ішемії»), в якій нейрони залишаються життєздатними впродовж 6–8 хв, та зона, котра її оточує (пенумбра), кровопостачання якої в найближчі 3–6 год є вищим за критичний поріг незворотних змін нейронів. У підгострій стадії внаслідок виходу лейкоцитів крізь пошкодженій гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) розвивається запалення, що стимулює апоптоз нейронів [8].

Отже, причиною ІІ є регіонарне зниження мозкового кровотоку в результаті ураження (стенозу чи оклюзії) магістральних судин ший

ЛЮБИЧ Лариса Дмитрівна
д. біол. н., ст. наук. співробітник,
завідуюча лабораторією культивування тканин
ДУ «Інститут нейрохірургії
імені акад. А.П. Ромоданова НАМН України»
Адреса: 04050, м. Київ, вул. Платона Майбороди, 32
Тел. роб.: +38 (044) 483-92-08
E-mail: lyubichld@gmail.com
ORCID ID: 0000-0001-6382-3643

і артерій мозку. Розрізняють декілька критичних рівнів зниження кровопостачання, після досягнення яких відбуваються зміни в структурі нервової тканини: <55 мл/(100 г · хв) – пригнічення синтезу білків, <35 мл/(100 г · хв) – стимуляція анаеробного гліколізу, лактацидоз, цитотоксичний набряк, <25 мл/(100 г · хв) – викид нейротрансмітерів, порушення іонного обміну, деполяризація мембран, порушення енергетичного метаболізму, <15 мл/(100 г · хв) – декомпенсація анаеробного гліколізу, активація каспаз і лізосомальних ферментів [9].

Тяжкість і зворотність ушкодження мозку безпосередньо залежать від тривалості ішемії. У разі тривалого зниження церебральної перфузії <15 мл/(100 г · хв) розвивається незворотне ушкодження – некроз тканини головного мозку. Ділянка мозку з найвираженішим зниженням кровотоку (<10 мл/(100 г · хв)) виявляється незворотно пошкодженою вже за 5 хв (зона ядра інфаркту мозку). Упродовж декількох годин цю зону оточує ішемізована (15–55 мл/(100 г · хв)) тканина – зона пенумбри («ішемічної напівтіні»), в якій ще збережений енергетичний метаболізм, але виявляються функціональні зміни нейронів з наростаючим зниженням електричної активності. Нейрони в ділянці пенумбри стають чутливими до будь-якого подальшого зниження перфузійного тиску (внаслідок вторинної гіповолемії після невинуватної дегідратації або некоректної гіпотензивної терапії). За рахунок цих клітин може відбуватися або поступове збільшення розмірів інфаркту, або зменшення вторинного пошкодження головного мозку. У разі своєчасного відновлення перфузії (до 4,5–6,0 год після дебюту інсульту) функція нервових клітин в зоні пенумбри може відновитися, у разі надто тривалого порушення кровопостачання клітини в зоні пенумбри гинуть [9]. Зниження мозкової перфузії призводить до обмеженого надходження до мозку O_2 та глюкози. Гіпоглікемія зумовлює активацію гліколізу і, відповідно, зменшення утворення в мозку АТФ. Нервові клітини втрачають іони K^+ , накопичують іони Na^+ та H_2O – виникає цитотоксичний набряк тканини мозку [9].

Наступний етап пов'язують із глутаматом – збуджувальним медіатором, який міститься в багатьох нейронах мозку, в разі деполяризації клітинних мембран викида-

ється в позаклітинний простір і шляхом зворотного внутрішньоклітинного захоплення нейтралізується. Гостра ішемія призводить до масивного продукування нейронами збуджувальних ексайтотоксинів (глутамату), але через брак тканинного АТФ для його зворотного захоплення клітина немає енергії. Надлишок глутамату призводить до так званої глутаматної ексайтотоксичності, котра виявляється насамперед відкриттям Ca^{2+} -каналів, масивним надходженням іонів Ca^{2+} всередину нейронів і виникненням Ca^{2+} -індукованої ексайтотоксичності [10]. Надлишкове накопичення в клітинах мозку йонів Ca^{2+} призводить до підсилення окисних процесів, надмірного синтезу оксиду азоту, продукції реактивних форм кисню (вільних радикалів), тобто до виникнення оксидативного стресу. Взаємодія надлишкового внутрішньоклітинного кальцію з оксидом азоту та ензимами спричиняє активацію внутрішньоклітинних ферментів (фосфоліпаз) [11, 12]. Це призводить до ушкодження жирового шару клітинної мембрани, основу якого становлять фосфоліпіди [13], утворення вільних жирних кислот (арахідонової кислоти) з подальшим перетворенням на ейкозаноїди (простагландини, простацикліни, тромбосани, лейкотрієни тощо) [14]. Крім того, внаслідок активації ішемією глії виникає вторинний локальний запальний процес, що збільшує проникність ГЕБ. Він досягає максимуму через 12–36 год. Зазначені процеси призводять до ослаблення захисних систем, руйнування клітинних структур (ДНК, білків, жирів), активації апоптозу та незворотного ураження нейронів мозку. Отже, формування зони інфаркту мозку відбувається шляхом некротичної загибелі клітин у перші хвилини його розвитку та розвитку апоптозу в наступні 3–48 год [15].

Ішемічний інсульт (інфаркт мозку) є результатом взаємодії великої кількості різнопланових чинників як локальних, так і системних. До локальних належать морфологічні зміни різних відділів артеріальної системи (атеросклеротичні та атеротромботичні стенози, оклюзії магістральних артерій, які кровопостачають мозок, артеріоартеріальна та кардіогенна емболія, фіброромбулярні дисплазії та розшарування стінок магістральних артерій шиї, артеріїти, остеофіти, які можуть бути причиною стенозу хребтових артерій),

до системних – порушення центральної та церебральної гемодинаміки, гемореологічні зміни крові при васкулітах, коагулопатіях, поліцитемії. Ці чинники ризику є передвісниками розвитку ІІ. Мозкова катастрофа трапляється, коли настає декомпенсація пристосувальних можливостей організму і запускаються зазначені патофізіологічні процеси в тканині мозку при ішемії [16].

Паралельно відбувається проліферація нейрогенних СК (НСК) і клітин-попередників та їх міграція в ішемічне вогнище [7]. У відповідь на ішемію змінюється експресія і секреція цитокінів, нейротрансмітерів, гормонів, компонентів міжклітинного матриксу, які ініціюють нейрогенез. Кількість нових нейронів збільшується в 30 разів, але вони можуть замінити лише 0,2 % загинувших клітин [17]. Більшість НСК і новоутворених нейронів піддаються апоптозу, не досягають термінального диференціювання і не формують функціональні зв'язки. Таким чином, репаративна регенерація, активована у відповідь на ІІ, не досягає повного відновлення втрачених функцій. Однак сам факт її активності впродовж декількох тижнів після ІІ спонукає до пошуку шляхів керування нейрогенезом.

Лікування ІІ потребує комплексного підходу, застосування, крім базисної, специфічної терапії. Базисна терапія спрямована на стабілізацію стану хворого та корекцію порушень, які можуть ускладнити відновлення неврологічних функцій (підтримка функцій дихання та кровообігу, корекція метаболічних і волемічних порушень, контроль рівня артеріального тиску). Специфічне лікування передбачає консервативне (введення антитромботичних засобів, інгібіторів агрегації тромбоцитів, антикоагулянтів, нейропротекторів) та хірургічне (селективний інтраартеріальний тромболізис, каротидна ендартеректомія, стентування артерій, хірургічне усунення деформацій анатомічного ходу артерій, ревазуляризаційні операції) лікування. Зазначені методи мають відносні та абсолютні протипоказання, а також імовірні ускладнення [6].

Обґрунтування вибору джерела стовбурових клітин

Стовбурові клітини – неспеціалізовані клітини, здатні до необмеженого поділу та самовідновлення, котрі дають початок новим

клітинам при формуванні тканин і під час їх репарації. Експериментальним шляхом доведено доцільність застосування СК для корекції багатьох патологічних станів організму людини. Основні відмінності різних типів СК – за джерелом походження (ембріональні, фетальні тканини, тканини дорослого організму) та здатністю до диференціювання (ступінь потентності).

Ембріональні СК (ЕСК) є плюрипотентними, здатні генерувати клітини всіх типів і мають майже необмежену проліферативну активність, НСК належать до мультипотентних СК і здатні генерувати всі клітинні типи нервової системи [18]. Відомі декілька специфічних ділянок розташування НСК: субвентрикулярна зона (subventricular zone (SVZ)) системи шлуночків головного мозку, субгранулярна зона (subgranular zone (SGZ)) зубчастої звивини (gyrus dentatus (GD)) гіпокампа, ростральний міграційний потік (rostral migratory stream (RMS)) та нюхова цибулина разом з нюховими зонами назального епітелію, судинна вистилка очного яблука в ділянці війкового тіла [19]. В експериментальних умовах відтвореного ІІ трансплантовані НСК демонструють великий потенціал міграції до зон патології у ЦНС, відновлюють деякі з втрачених функцій головного мозку, стимулюють нейрогенез та ріст аксонів у пошкодженій нервовій тканині, пригнічують запалення і формування гліального рубця [20, 21].

Основні чинники, які перешкоджають застосуванню ЕСК і НСК у людини, – це морально-етичні, релігійні та юридичні аспекти, пов'язані з джерелом і методом отримання клітин [22–26].

Іншим чинником, здатним обмежити застосування СК у терапевтичних цілях, є імунні реакції проти пересаджених клітин після трансплантації. Залежно від сумісності донорських клітин з реципієнтом за антигенами головного комплексу гістосумісності розрізняють *авто-, ізо-, ало- і ксенотрансплантацію*. Відповідно клітини трансплантата можуть бути *автологічними* (пересадка власних клітин), *сингенними* (пересадка клітин у межах однієї лінії лінійних (генетично ідентичних) тварин або однойцевих близнюків), *алогенними* (пересадка клітин в межах одного виду тварин або від однієї людини іншій) та *ксеногенними* (пересадка клітин між особинами різних видів) [27]. У зв'язку із зазначеним,

найбезпечнішим є використання автологічних СК (власних клітин пацієнта), оскільки цей варіант трансплантації не потребує тривалого застосування протоколів імуносупресії.

Завдяки відносній безпечності та простоті отримання, набуває поширення використання мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин (МСК). За даними Національних інститутів здоров'я США [28], станом на грудень 2020 р. заявлено 54 клінічних рандомізованих контрольованих випробування безпечності та ефективності застосування СК при ІІ, з них 16 (1/4) – передбачають використання МСК з різних джерел (із кісткового мозку (КМ) – 11 випробувань, жирової тканини – 2, пуповини – 3). З можливих джерел автологічних МСК найбільше поширення отримали МСК КМ (5 випробувань). Застосування МСК жирової тканини і пуповини передбачає джерела лише аlogenного походження.

Застосування мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку в лікуванні ішемічного інсульту: доклінічні та клінічні дослідження

Мезенхімальні СК представлені в негемопетичній фракції СК КМ. Ці мультипотентні фібробластоподібні клітини здатні диференціюватися в клітини мезодермальних (адипоцити, хондро-, остео- та міобласти) та ектодермальних (нейрони і астроцити) ліній *in vitro* та *in vivo* [29]. Їх відносно просто можна виділити з моноклеарної фракції КМ пацієнтів і розмножити в культурі *ex vivo* без етичних і технічних обмежень. Вони вважаються низькоантигенними (за експресією антигенів головного комплексу гістосумісності ІІ класу), продукують фактори росту, цитокіни, молекули позаклітинного матриксу – джерело потенційних нейротрофічних, нейропротекторних та імунomodulatory ефектів.

Імплантовані в мозок миші МСК виявляють достатню виживаність, проліферують, мігрують у вогнище пошкодження і диференціюються в гліальні клітини та електрично активні нейрони, інтегровані у функціональну мережу кори [30]. При експериментальному ІІ у щурів трансплантовані МСК можуть мігрувати в пошкоджену зону мозку, приживлятися в місці пошкодження, диференціюватися в нейрони та астроцити [31]. Нейропротективний ефект МСК не завжди корелює зі зменшенням площі інфаркту моз-

ку: його спостерігали як при зменшенні розміру зони ІІ (іноді більше ніж утричі [32]), так і при збереженні її розміру [33]. Оскільки лише 0,01 % [29] чи навіть 0,001 % [34] трансплантованих МСК, уведених внутрішньовенно щурам у моделі ІІ, приживаються в ішемізованій корі та починають експресувати маркери нервових клітин та ендотеліоцитів, вважають, що поліпшення, яке спостерігають у тварин та пацієнтів з ІІ після введення МСК, не пов'язане з диференціацією цих клітин у нейрони [35]. Мезенхімальні СК реалізують репаративний вплив через секрецію трофічних факторів і антиапоптичних білків, відновлюючи функції нейронів, посилюючи ангиогенез, регулюючи імунні реакції та знижуючи апоптоз [36–41]. Нейропротективний ефект трансплантованих МСК пов'язаний здебільшого із секрецією ними таких цитокинів та нейротрофічних факторів, як VEGF (vascular endothelial growth factor), NGF (nerve growth factor), BDNF (brain-derived neurotrophic factor), bFGF/FGF-2 (basic fibroblast growth factor) та IGF-1 (insulin growth factor-1), котрі активують ендогенні репараційні механізми [36, 37]. Дія цих цитокинів ініціює посилення метаболізму глюкози, міграцію НСК із нейрогенних зон у вогнище ішемії [7, 38], їх виживання та диференціювання в нейрони та астроцити [29]. Активується синаптогенез, олігодендрогенез, астроцитогенез, ангиогенез, неоваскулогенез у пошкодженій тканині, підсилюється проліферація ендогенних НСК [39], спостерігається обмеження апоптозу в пенумбрі, збільшення щільності аксонів у перинфарктній корі з новими синаптичними зв'язками [40], стимулюється ремієлінізація в демієлізованій ділянці та аксональна пластичність в іпсилатеральній корі у щурів з інсультом [41], відновлюється цілісність ГЕБ та обмежується набряк [38]. Ці ефекти корелюють зі ступенем відновлення неврологічних і рухових функцій [36].

Порівняльне дослідження при гострому тромботичному ІІ у щурів показало, що інтрацеребральна трансплантація тканини автологічного КМ, так само, як і аlogenної ембріональної нервової тканини, сприяє виживанню клітин зони ішемічної пенумбри, обмежує поширення зони інфаркту і запобігає вторинним дегенеративним змінам клітин ураженої півкулі головного мозку,

стимулює ангиогенез, що сприяє швидшому відновленню неврологічних функцій [42]. Проте автотрансплантація тканин КМ має перевагу над алотрансплантацією ембріональної тканини за рахунок активнішої стимуляції ангиогенезу та функціонального відновлення [42].

Після великої кількості експериментальних досліджень, які виявили потенціал трансплантації СК як нового терапевтичного підходу до лікування ІІ [17, 21, 29, 32, 37, 43], за останні 15 років проведено перші клінічні дослідження з використанням СК у пацієнтів з ІІ [31, 44–49]. Використовували різні джерела (ксеногенні, алогенні, аутологічні), типи клітин (ЕСК, МСК КМ, гемопоетичні стовбурові клітини), шляхи введення (внутрішньовенний, внутрішньоартеріальний, внутрішньомозковий, інтратекальний) на різних фазах захворювання (гостра, підгостра, хронічна) [48].

Трансплантацію МСК КМ визнано безпечною: при застосуванні аутологічних МСК КМ у хворих з тяжким неврологічним дефіцитом після інфаркту в басейні середньої мозкової артерії пацієнти добре і без ускладнень перенесли введення клітин безпосередньо в мозок [49] та внутрішньовенно [38], відновилися краще за пацієнтів із групи порівняння, впродовж 5 наступних років не мали рецидивів хвороби, тяжких побічних ефектів, у цій групі не було летальних наслідків [50].

На платформі Cochrane Library представлено аналіз досліджень «трансплантація СК при ІІ», проведений з використанням ресурсів Cochrane Stroke Group Trials Register, CENTRAL, MEDLINE, Embase, BIOSIS станом на серпень 2018 р. [1]. У попередній огляд 2010 р. було залучено 18 досліджень (фази ІІ–ІІІ) із 3 тис. учасників з гострою, підгострою або хронічною фазою ІІ, яких лікували введенням СК. Зроблено попередні висновки щодо поліпшення рухових і когнітивних функцій на 10 % у групі пацієнтів, котрим вводили СК, порівняно з контрольною групою (стандартне лікування ІІ) та щодо більшої безпечності інтраартеріального і внутрішньомозкового введення завдяки меншій частоті інфекційних ускладнень. В огляді 2018 р. (публікація 05.2019 р.) наведено обережніші висновки. Цей огляд містить аналіз 7 завершених рандомізованих клінічних досліджень із залученням 401

учасника. Пацієнтам вводили нейральні СК людини в гострій, підгострій чи хронічній фазі ІІ. Способи введення – внутрішньовенний, інтраартеріальний, інтрацеребральний або інтралюмбарно в субарахноїдальний простір. Тривалість спостереження – від 6 міс до 7 років. Ефективність визначали, використовуючи оцінку неврологічного дефіциту за шкалою NIHSS, модифікованою шкалою Ренкіна, індексом Бартел. Безпечність оцінювали за розвитком ускладнень та кількістю летальних наслідків. Загалом трансплантація СК асоціювалась зі зменшенням неврологічних порушень (оцінка за шкалою NIHSS), але не з кращим функціональним результатом (оцінка за модифікованою шкалою Ренкіна та індексом Бартел). Жодних значних проблем щодо безпечності такої терапії не виявлено (жодного летального випадку). Однак ці висновки зроблено здебільшого на невеликих вибірках з високим ризиком упередженості, тому потрібно провести більш продумані випробування [1].

Попри відсутність чіткого протоколу застосування СК при ІІ, упродовж останніх років розуміння механізму їх дії значно поліпшилося: акцент змістився з гіпотези «клітинного заміщення» на концепцію модуляторного впливу – активування таких процесів, як імунomodуляція, супресія запальної реакції та стимуляція ендogenous відновлення [43, 46, 47, 51, 52]. Обговорюють два підходи: нейропротекцію в гострій фазі та нейрореставрацію в хронічній фазі [53, 54]. Рання доставка СК зменшує гострі процеси при розвитку ІІ, змінюючи тканинне середовище через пригнічення запалення, оксидативного стресу, апоптозу. При гострому інсульті пацієнт може перебувати в критичному стані, тому доставку СК слід проводити внутрішньоартеріально. Перевагу віддають МСК через найбільший імунomodулювальний потенціал [51]. У фазі відновлення кращим шляхом введення є внутрішньомозкова імплантація МСК [51].

На нашу думку, на нинішньому етапі найдоцільніше використовувати аутологічні МСК КМ, аргументи щодо переваг яких наведено вище. Платформа *ClinicalTrials.gov* містить дані щодо 5 актуальних клінічних випробувань із застосуванням аутологічних МСК КМ (таблиця) [28]. З них завершено

Таблиця. Світові випробування з використанням аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку при ішемічному інсульті

Захворювання	Статус	Термін	Фаза	Кількість пацієнтів	Вид дослідження	Локалізація та доза введення стовбурових клітин	Індифікатор Clinical Trials.gov	Місце проведення	Результати
Ішемічний інсульт	Завершено	Серпень 2010 р. – жовтень 2017 р.	Іа	31	Одноцентрове рандомізоване відкрите контрольоване	Внутрішньовенне введення аутологічних стовбурових клітин не пізніше 6 тиж після інсульту	NCT00875654	Університетська клініка м. Пренобль, Франція	Jaillard A. et al., 2020
Гострий і хронічний ішемічний інсульт	Невідомо	Листопад 2012 р. – грудень 2017 р.	ІІІ	60	Одноцентрове рандомізоване відкрите	Внутрішньовенне введення аутологічних стовбурових клітин, розморожених в аутологічній сироватці	NCT01716481	Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Korea	–
Ішемічний інсульт	Невідомо	Листопад 2011 р. – березень 2017 р.	І, ІІ	20	Мультицентрове рандомізоване сліпе контрольоване	Аутологічні стромальні клітини кісткового мозку (2,5 · 106/кг)	NCT01468064	Південний медичний університет, Китай	–
Хронічний ішемічний інсульт	Невідомо	Листопад 2014 р. – листопад 2016 р.	І	40	Рандомізоване	Внутрішньовенне введення аутологічних стовбурових клітин	NCT02564328	Південний медичний університет, Китай Hospital of Guangzhou Medical University	–
Хронічний ішемічний інсульт	Невідомо	Червень 2012р. – жовтень 2015 р.	І	30	Нерандомізоване	Інтрацеребральне введення аутологічних стовбурових клітин (2–4 · 106/кг)	NCT01714167	Wenzhou Medical University University of North Texas Health Science Center	–

лише 1 (NCT008756540), статус інших невідомий. Так, завершено клінічне випробування NCT00875654, проведене в Університетській клініці м. Гренобль (Франція) із серпня 2010 р. до жовтня 2017 р. Було залучено 31 пацієнта з ІІ в каротидному басейні у підгострий період (не пізніше 2 тиж після інсульту), з неврологічним дефіцитом (NIHSS ≥ 7), яких спостерігали впродовж 2 років. З них 16 пацієнтам вводили МСК КМ внутрішньовенно, іншим проводили стандартну терапію (контроль). Доцільність лікування становила 80 %, зафіксовано 10 (через 6 міс) та 16 (через 2 роки) випадків побічних ефектів після введення МСК КМ порівняно з 12 і 24 відповідно в осіб контрольної групи. Не виявлено ефекту лікування за індексом Бартел, шкалою NIHSS та модифікованою шкалою Ренкіна, але відзначено суттєве поліпшення за руховими шкалами NIHSS ($p = 0,004$), шкалою Fugl-Meyer ($p = 0,028$) та активністю fMRI під час виконання завдань у MI-4a ($p = 0,031$) та MI-

4p ($p=0,002$). Внутрішньовенне лікування автологічними МСК КМ після інсульту визнано безпечним та здійсненим. Результати рухової діяльності та активності fMRI, пов'язаної з виконанням завдань, свідчать про те, що МСК поліпшують відновлення рухової функції завдяки сенсомоторній нейропластичності [55].

Висновки

Таким чином, застосування СК, як нова парадигма лікування ІІ, змістилося з експериментальної у практичну площину: нині розробляються пропозиції щодо ІІ/ІІІ фаз клінічних випробувань при гострому та хронічному інсульті. Точних рекомендацій щодо вибору пацієнтів, виду клітин і дозування, часового інтервалу введення, кінцевої точки введення та тривалості спостереження немає. Поступово накопичуються дані клінічних досліджень, що дасть змогу в подальшому розробити на їх основі сертифіковані стандартизовані протоколи лікування ІІ із застосуванням СК.

References

- Boncoraglio GB, Ranieri M, Bersano A, Parati EA, Del Giovane C. Stem cell transplantation for ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;5(5):CD007231. doi: 10.1002/14651858.CD007231.pub3. PMID: 31055832; PMCID: PMC6500737.
- Global Stroke Fact Sheet. Available from: www.world-stroke.org/assets/downloads/WSO_Global_Stroke_Fact_Sheet.pdf.
- Dzjak LA., Zozulja OA, Kligunenko EN, Kushh EA. Novye vozmozhnosti mul'timodal'noj farmakoterapii ostrogo perioda ishemicheskogo insulta. *Mizhnar. Nevrol. Zhurn.* 2015;(5):39-44. (In Russian)
- Mishchenko TS. Epidemiology of cerebrovascular diseases and organization of medical care for patients with stroke in Ukraine. *Ukrainian Announcer of Psihonevrologii.* 2017; 25(1,90):22-24. (In Russian)
- Tovazhnyanska OL, Lapshina IO, Soloviova YeT. Meldonium in patients with ischemic stroke in the early recovery period. *Mizhnar. Nevrol. Zhurn.* 2017; 6(92):47-50. (In Russian) doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0713.6.92.2017.111587>
- European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008. *Cerebrovasc Dis.* 2008;25(5):457-507. doi: 10.1159/000131083.
- Lee MC, Jin CY, Kim HS, et al. Stem cell dynamics in an experimental model of stroke. *Chonnam Med J.* 2011;47(2):90-8. doi: 10.4068/cmj.2011.47.2.90.
- Glover LE, Tajiri N, Weinbren NL et al. A step-up approach for cell therapy in stroke: translational hurdles of bone marrow-derived stem cells. *Transl Stroke Res.* 2012;3(1):90-8. doi: 10.1007/s12975-011-0127-8.
- Kahle KT, Simard JM, Staley KJ, Nahed BV, Jones PS, Sun D. Molecular mechanisms of ischemic cerebral edema: role of electroneutral ion transport. *Physiology (Bethesda).* 2009;24:257-65. doi: 10.1152/physiol.00015.2009. PMID: 19675357.
- Castillo MR, Babson JR. Ca(2+)-dependent mechanisms of cell injury in cultured cortical neurons. *Neuroscience.* 1998;86(4):1133-44. doi: 10.1016/s0306-4522(98)00070-0. PMID: 9697120.
- De SR, Ajmone-Cat MA, Nicolini A, Minghetti L. Expression of phosphatidylserine receptor and down-regulation of pro-inflammatory molecule production by its natural ligand in rat microglial cultures. *J Neuro-pathol Exp Neurol.* 2002;61(3):237-44. doi: 10.1093/jnen/61.3.237. PMID: 11895038.
- Di Paolo G, De Camilli P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. *Nature.* 2006;443(7112):651-7. doi: 10.1038/nature05185. PMID: 17035995.
- Farooqui AA, Ong WY, Horrocks LA. Biochemical aspects of neurodegeneration in human brain: involvement of neural membrane phospholipids and phospholipases A2. *Neurochem Res.* 2004;29(11):1961-77. doi: 10.1007/s11064-004-6871-3. PMID: 15662832
- Morgan CP, Skippen A, Segui B et al. Phosphorylation of a distinct structural form of phosphatidylinositol transfer protein alpha at Ser166 by protein kinase C

- disrupts receptor-mediated phospholipase C signaling by inhibiting delivery of phosphatidylinositol to membranes. *J Biol Chem.* 2004;279(45):47159-71. doi: 10.1074/jbc.M405827200.
15. Grotta JC, Albers GW, Broderick JP et al. *Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management.* Elsevier Inc., 2015.
 16. Tsybalyuk VI, red. *Neyrokhiruriya: Pidruchnyk.* Vynnytsya: Nova Knyha; 2011. P.72-3. (In Ukrainian)
 17. Bao X, Feng M, Wei J et al. Transplantation of Flk-1+ human bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia in rats. *Eur J Neurosci.* 2011;34(1):87-98. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07733.x.
 18. Grishchenko VI. Problema stvolovykh kletok: fundamentalnye i prikladnye aspekty. *Zhurnal AMN Ukraini.* 2004;10(2):253-8. (In Russian)
 19. Temple S. The development of neural stem cells. *Nature.* 2001;414(6859):112-7. doi: 10.1038/35102174.
 20. Bonnamain V, Neveu I, Naveilhan P. Neural stem/progenitor cells as a promising candidate for regenerative therapy of the central nervous system. *Front Cell Neurosci.* 2012;6:17. doi: 10.3389/fncel.2012.00017. PMID: 22514520; PMCID: PMC3323829
 21. Yu H, Cao B, Feng M et al. Combined transplantation of neural stem cells and collagen type I promote functional recovery after cerebral ischemia in rats. *Anat Rec (Hoboken).* 2010;293(5):911-7. doi: 10.1002/ar.20941. PMID: 20191618.
 22. WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. Available from: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005. (In Ukrainian)
 23. https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995_575.
 24. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2231-IV>.
 25. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2801-12>.
 26. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1697-13>.
 27. Liubich LD, Lisiany MI. Imunobiologichni vlastyivosti neyrohennykh klityn fetal'noho mozku. I. Ekspresiya molekul z imunnymi vlastyvostyamy. *Fiziologichnyy zhurnal*, 2017;63(6):118-35. (In Ukrainian)
 28. www.ClinicalTrials.gov
 29. Wei L, Fraser JL, Lu ZY, Hu X, Yu SP. Transplantation of hypoxia preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhances angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia in rats. *Neurobiol Dis.* 2012;46(3):635-45. doi: 10.1016/j.nbd.2012.03.002.
 30. Yagi H, Soto-Gutierrez A, Parekkadan B et al. Mesenchymal stem cells: Mechanisms of immunomodulation and homing. *Cell Transplant.* 2010;19(6):667-79. doi: 10.3727/096368910X508762.
 31. Shen LH, Li Y, Chen J et al. Therapeutic benefit of bone marrow stromal cells administered 1 month after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27(1):6-13. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600311.
 32. Jang DK, Park SI, Han YM et al. Motor-evoked potential confirmation of functional improvement by transplanted bone marrow mesenchymal stem cell in the ischemic rat brain. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:238409. doi: 10.1155/2011/238409.
 33. Zhang L, Li Y, Zhang C, Chopp M, Gosiewska A, Hong K. Delayed administration of human umbilical tissue-derived cells improved neurological functional recovery in a rodent model of focal ischemia. *Stroke.* 2011;42(5):1437-44. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.593129.
 34. Walker PA, Letourneau PA, Bedi S, Shah SK, Jimenez F, Cox CS Jr. Progenitor cells as remote «bioreactors»: neuroprotection via modulation of the systemic inflammatory response. *World J Stem Cells.* 2011;3(2):9-18. doi: 10.4252/wjsc.v3.i2.9.
 35. Burns TC, Verfaillie CM, Low WC. Stem cells for ischemic brain injury: a critical review. *J Comp Neurol.* 2009;515(1):125-44. doi: 10.1002/cne.22038. PMID: 19399885; PMCID: PMC4112591
 36. Gutiérrez-Fernández M, Fuentes B, Rodríguez-Frutos B, Ramos-Cejudo J, Vallejo-Cremades MT, Díez-Tejedor E. Trophic factors and cell therapy to stimulate brain repair after ischaemic stroke. *J Cell Mol Med.* 2012;16(10):2280-90. doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01575.x.
 37. Li J, Zhu H, Liu Y et al. Human mesenchymal stem cell transplantation protects against cerebral ischemic injury and upregulates interleukin-10 expression in *Macaca fascicularis*. *Brain Research.* 2010;1334:65-72. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.03.080>.
 38. Honmou O, Houkin K, Matsunaga T et al. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke. *Brain.* 2011;134(Pt 6):1790-807. doi: 10.1093/brain/awr063.
 39. Borlongan CV, Glover LE, Tajiri N, Kaneko Y, Freeman TB. The great migration of bone marrow-derived stem cells toward the ischemic brain: therapeutic implications for stroke and other neurological disorders. *Prog Neurobiol.* 2011;95(2):213-28. doi: 10.1016/j.pneurobio.2011.08.005.
 40. Honmou O, Onodera R, Sasaki M, Waxman SG, Kocsis JD. Mesenchymal stem cells: therapeutic outlook for stroke. *Trends Mol Med.* 2012;18(5):292-7. doi: 10.1016/j.molmed.2012.02.003.
 41. Lindvall O, Kokaia Z. Stem cell research in stroke: how far from the clinic? *Stroke.* 2011;42(8):2369-75. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.599654.
 42. Iarmoliuk IeS, Tsybalyuk VI, Staino LP, Savchuk OV, Diatel MV. Effect of transplantation of cell suspension from embryonic nervous tissue and bone marrow on postischemic cerebral angiogenesis and restoration of limb motor function in rats with experimental ischemic stroke. *Cell and Organ Transplantation.* 2015; 3(2):125-32. DOI: 10.22494/COT.V3I2.16
 43. Zhang ZG, Chopp M. Neurorestorative therapies for stroke: underlying mechanisms and translation to the clinic. *Lancet Neurol.* 2009;8(5):491-500. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70061-4., 2011
 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. *The Lancet.*

- 2016;388(10046):787-96. ISSN 0140-6736, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30513-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30513-X);
45. Sinden JD, Hicks C, Stroemer P, Vishnubhatla I, Corteling R. Human neural stem cell therapy for chronic ischemic stroke: charting progress from laboratory to patients. *Stem Cells Dev.* 2017;26(13):933-47. doi: 10.1089/scd.2017.0009.
 46. Muir KW. Clinical trial design for stem cell therapies in stroke: What have we learned? *Neurochem Int.* 2017;106:108-13. doi: 10.1016/j.neuint.2016.09.011.
 47. Muir KW, Bulters D, Willmot M et al. Intracerebral implantation of human neural stem cells and motor recovery after stroke: multicentre prospective single-arm study (PISCES-2). *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 2020;91:396-401. <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp-2019-322515>
 48. Nagpal A, Choy FC, Howell S et al. Safety and effectiveness of stem cell therapies in early-phase clinical trials in stroke: a systematic review and meta-analysis. *Stem Cell Res Ther.* 2017;8(1):191. doi: 10.1186/s13287-017-0643-x. PMID: 28854961; PMCID: PMC5577822
 49. Suárez-Monteaudo C, Hernández-Ramírez P, Alvarez-González L et al. Autologous bone marrow stem cell neurotransplantation in stroke patients. An open study. *Restor Neurol Neurosci.* 2009;27(3):151-61. doi: 10.3233/RNN-2009-0483. PMID: 19531871
 50. Lee JS, Hong JM, Moon GJ, Lee PH, Ahn YH, Bang OY; STARTING collaborators. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells.* 2010;28(6):1099-106. doi: 10.1002/stem.430. PMID: 20506226
 51. Janowski M, Wagner DC, Boltze J. Stem cell-based tissue replacement after stroke: factual necessity or notorious fiction? *Stroke.* 2015;46(8):2354-63. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.007803.
 52. Goldman SA. Stem and progenitor cell-based therapy of the central nervous system: hopes, hype, and wishful thinking. *Cell Stem Cell.* 2016;18(2):174-88. doi: 10.1016/j.stem.2016.01.012. PMID: 26849304; PMCID: PMC5310249
 53. Borlongan CV. Age of PISCES: stem-cell clinical trials in stroke. *Lancet.* 2016;388(10046):736-8. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31259-4.
 54. Borlongan CV. Preliminary reports of stereotaxic stem cell transplants in chronic stroke patients. *Mol Ther.* 2016;24(10):1710-1. doi: 10.1038/mt.2016.186.
 55. Jaillard A, Hommel M, Moisan A et al. (for the ISIS-HERMES Study Group). Autologous Mesenchymal stem cells improve motor recovery in subacute ischemic stroke: a randomized clinical trial. *Transl Stroke Res.* 2020;11(5):910-23. doi: 10.1007/s12975-020-00787-z.

ПРИМЕНЕНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ДЕФЕКТОВ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКИМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Е.Г. ПЕДАЧЕНКО, В.В. МОРОЗ, В.А. ЯЦИК, У.И. МАЛЯР, Л.Д. ЛЮБИЧ, Д.М. ЕГОРОВА
ГУ «Институт нейрохирургии имени акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев

Инсульт является глобальной медицинской и социально-экономической проблемой, что обуславливает потребность в альтернативных способах лечения, ведущее место среди которых занимает клеточная терапия с применением стволовых клеток (СК). Патогенетические процессы при ишемическом инсульте (ИИ) запускают механизмы некротической и апоптической гибели нейронов с формированием центральной зоны инфаркта («ядро ишемии») и зоны «пенумбры» (ишемической «полутени»). Тяжесть и обратимость повреждения напрямую зависят от продолжительности ишемии. Параллельно с патогенетическими процессами происходит эндогенный нейрогенез – пролиферация нейрогенных стволовых и прогениторных клеток и их миграция в ишемический очаг, но большинство нейрогенных СК и вновь образованных нейронов подвергаются апоптозу, и восстановления утраченных функций не происходит. Значительные усилия направлены на поиск путей управления нейрогенезом, в частности с помощью трансплантации экзогенных СК. Основные факторы, препятствующие применению СК у человека, – морально-этические, религиозные и юридические аспекты, связанные с источником и способом получения клеток, а также вероятные иммунообусловленные осложнения из-за несовместимости донорских клеток с реципиентом по антигенам главного комплекса гистосовместимости. Наиболее безопасным является использование аутологичных СК (собственных клеток пациента), поскольку не требует применения протоколов иммуносупрессии. Благодаря относительной безопасности и простоте получения, наибольшее распространение получили мультипотентные мезенхимальные СК (МСК), а именно МСК костного мозга (КМ). Многочисленные до-

клинические исследования на экспериментальных животных с моделью ИИ, а также проведенные в течение последних 15 лет клинические испытания, показали безопасность и целесообразность трансплантации аутологичных МСК КМ у больных с тяжелым неврологическим дефицитом после ИИ. Обсуждаются два подхода к применению МСК: нейропротекция в острой фазе и нейрореставрация в хронической фазе ИИ. В настоящее время разрабатываются предложения о II/III фазе клинических испытаний при остром и хроническом инсульте с применением МСК КМ, результаты которых станут основой для сертифицированных стандартизированных протоколов лечения ИИ.

Ключевые слова: ишемический инсульт; аутологичная трансплантация; мезенхимальные стволовые клетки; костный мозг; клинические испытания.

AUTOLOGOUS CELL USING FOR THE RESTORATION OF FUNCTIONAL DEFECTS IN PATIENTS WITH ISCHEMIC CEREBROVASCULAR ACCIDENT

E.G. PEDACHENKO, V.V. MOROZ, V.A. YATSYK, U.I. MALYAR, L.D. LIUBICH, D.M. EGOROVA
Romodanov Neurosurgery Institute, NAMS of Ukraine, Kyiv

Stroke is a global medical and socio-economic problem and a great demand for alternative therapies, the leading one being stem cell (SC) therapy. Pathogenetic processes in ischemic stroke (II) trigger the mechanisms of necrotic and apoptotic death of neurons with the formation of the central infarct zone («core of ischemia») and the ischemic «penumbra» zone; the severity and reversibility of the injury directly depends on the duration of ischemia. In parallel with pathogenetic processes, endogenous neurogenesis occurs – the proliferation of neurogenic stem and progenitor cells (NSC/NPC) and their migration into the ischemic focus; however, most NSCs and newly formed neurons undergo apoptosis and recovery of lost functions does not occur. Significant efforts are being made to find ways to control neurogenesis, in particular through the transplantation of exogenous SCs. The main factors preventing the use of SCs in humans are moral, ethical, religious and legal aspects related to the source and method of obtaining cells, as well as possible immunocompromised complications due to incompatibility of donor cells with the recipient of the main histocompatibility complex antigens. The safest is the use of autologous SCs (the patient's own cells), as it does not require the use of immunosuppressive protocols. Due to the relative safety and ease of production, the most common are multipotent mesenchymal stem cells (MSCs), namely MSCs of the bone marrow (BM). Numerous preclinical studies in experimental animals with modeled II, as well as clinical trials conducted over the past 15 years, have shown the safety and feasibility of transplantation of autologous MSCs in patients with severe neurological deficits after II. Two different approaches to the use of MSCs are discussed: neuroprotection in the acute phase and neurorestoration in the chronic phase II. Proposals are currently being developed for phase II/III clinical trials in acute and chronic stroke using BM MSCs, the results of which will form the basis for certified standardized II treatment protocols.

Key words: ischemic insult; autologic transplantation; mesenchymal stem cells; bone marrow; clinical trials.