Новітні методи застосування стовбурових клітин і біоінженерних технологій у регенеративній медицині

Матеріали циклу робіт, що висувається на здобуття Державної премії України в галузі науки і техніки за 2021 рік

Колектив претендентів

Габрієлян Артур Володимирович – д-р. мед. наук, завідувач відділу трансплантації та хірургії серця ДУ "Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова НАМН України"

Голюк Євгеній Леонтійович – канд. мед. наук, завідувач Науково-практичного центру тканинної та клітинної терапії ДУ "Інститут травматології та ортопедії НАМН України"

Домбровський Дмитро Борисович – д-р. мед. наук, професор, начальник підрозділу хірургії судин, ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня»

Кирик Віталій Михайлович – канд. мед. наук, старш. наук. співроб., завідувач лабораторії клітинних та тканинних культур ДУ "Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України"

Медведєв Володимир Вікторович – д-р. мед. наук, професор кафедри нейрохірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця

Руденко Сергій Анатолійович – канд. мед. наук, старш. наук. співроб., завідувач відділу хірургічного лікування ішемічної хвороби серця ДУ "Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М.М. Амосова НАМН України"

Шаблій Володимир Анатолійович – канд. біол. наук, заступник директора Кріобанку Інституту клітинної терапії

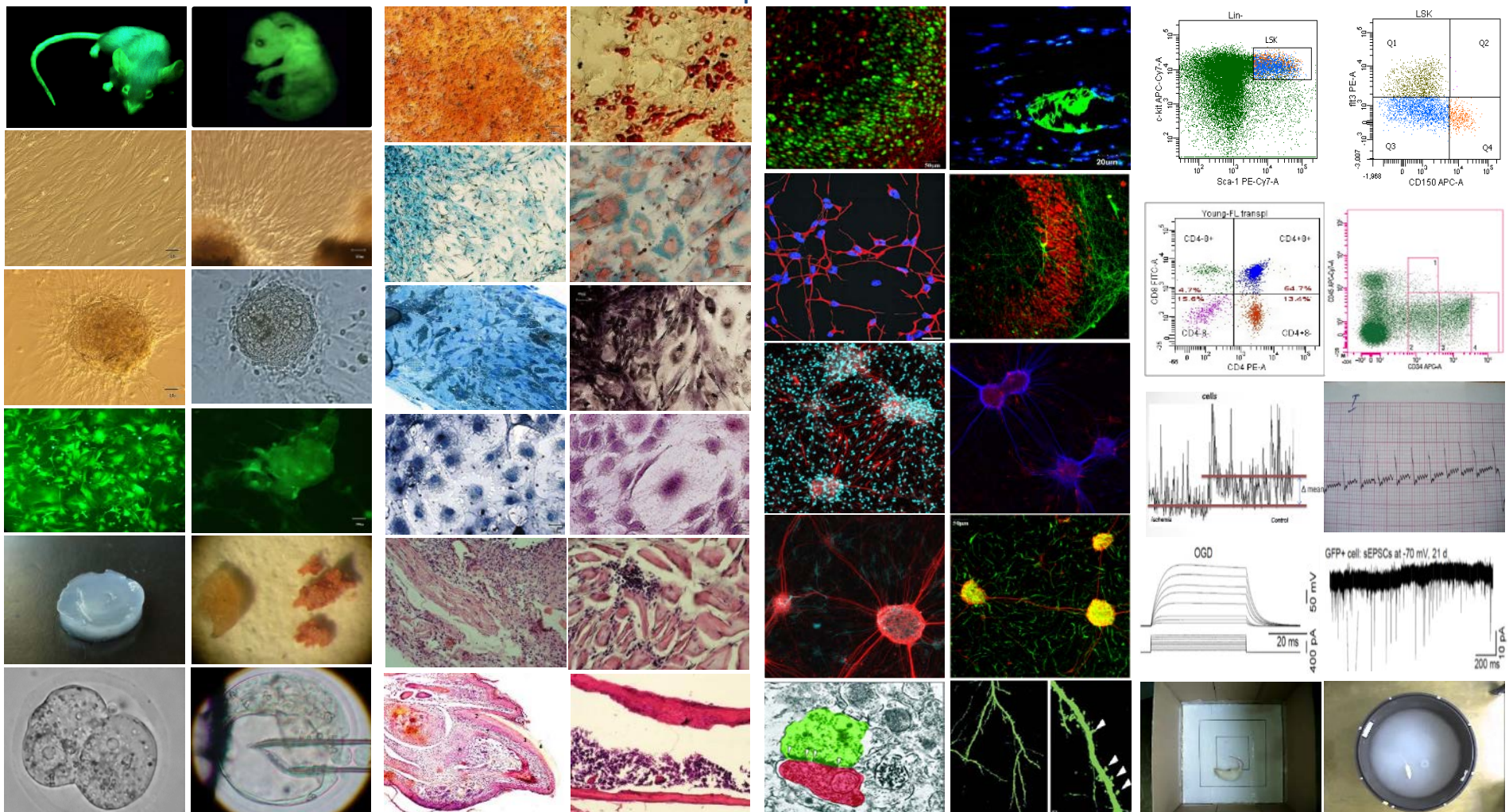
Кирик В.М., Устименко А.М., Кучук О.В., Цупиков О.М., Рибачук О.А., Клименко П.П.

Типи досліджуваних стовбурових клітин

- **Гемопоетичні СК мишей: кістковий мозок, фетальна печінка**
- **Гемопоетичні СК людини: пуповинна кров, плацента**
- **Мультипотентні мезенхімальні СК мишей та людини: кістковий мозок, жирова тканина, плацента**
- **Нейральні прогеніторні та стовбурові клітини мишей**
- **СК міокарда мишей та людини**

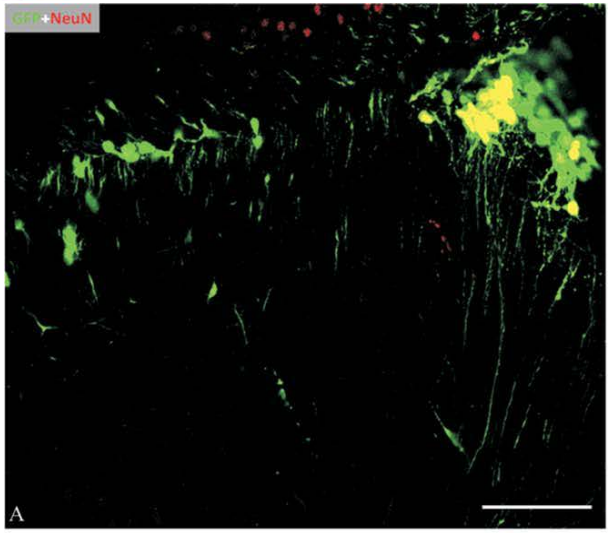
Методичні підходи

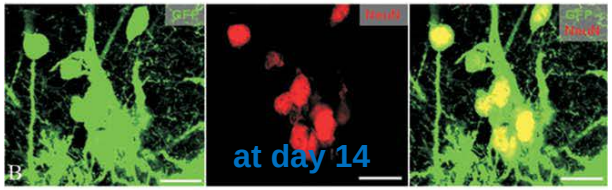
- **2D і 3D культивування клітин та тканин**
- **Контактне та безконтактне співкультивування клітин та тканин**
- **Направлене диференціювання стовбурових клітин**
- **Гістологічні дослідження, морфометрія**
- **Мікроскопія: світлова, флуоресцентна, конфокальна, електронна**
- **Імунофлуоресценція: протоочна цитометрія, імуноцито-/гістохімія**
- **Моделювання пошкоджень тканин: головний мозок, серце, кістки, м’язи, шкіра**

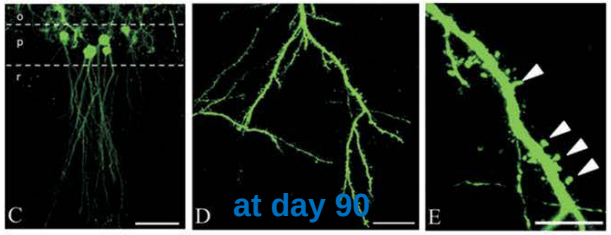


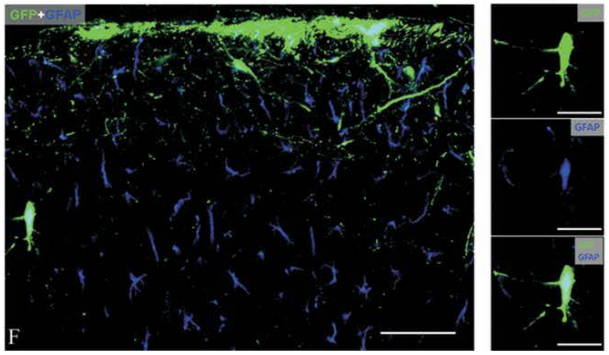
Кирик В.М., Цупиков О.М., Скибо Г.Г.

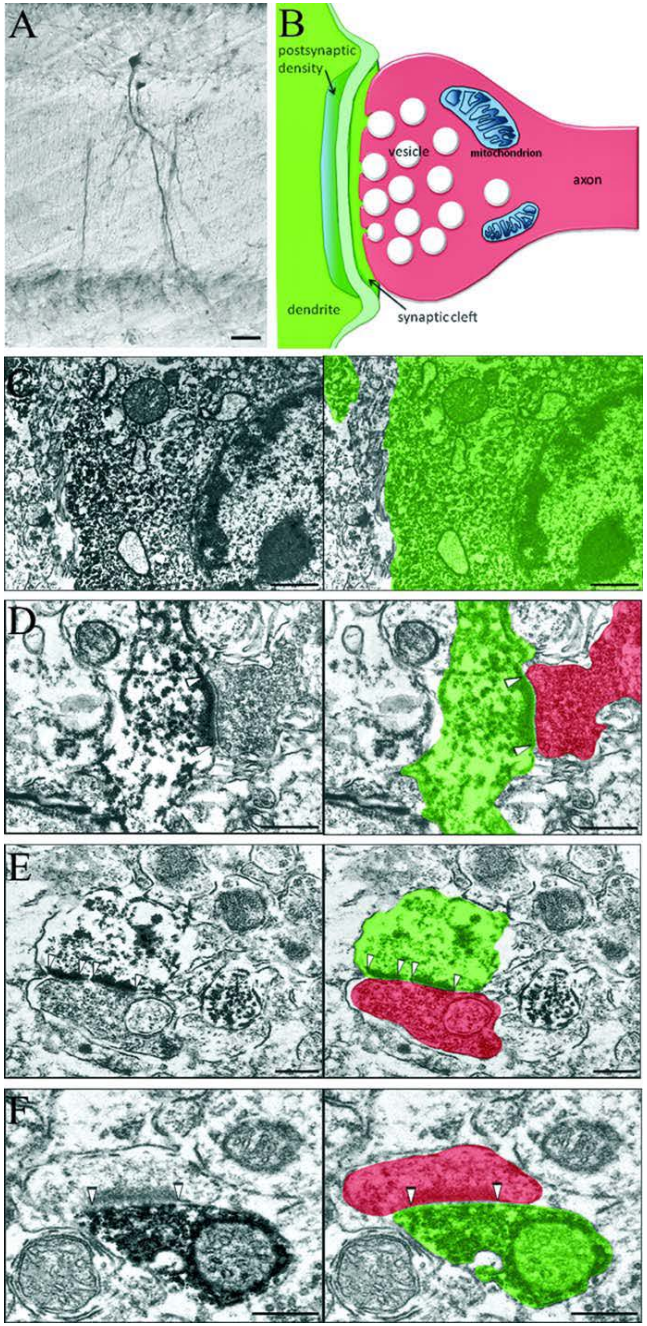
Регенеративний потенціал стовбурових клітин при ішемічному пошкодженні головного мозку

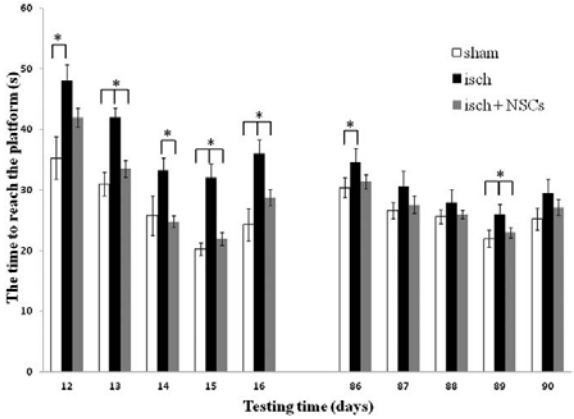




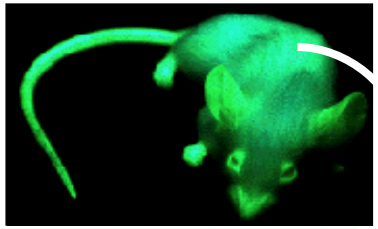


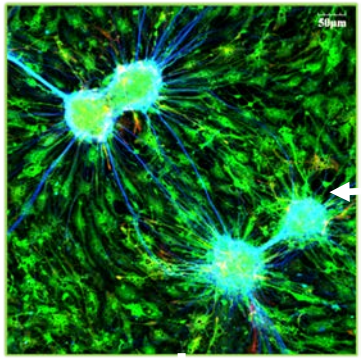


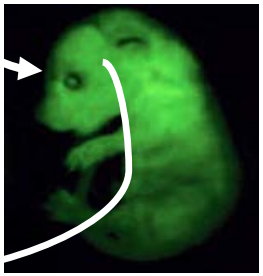


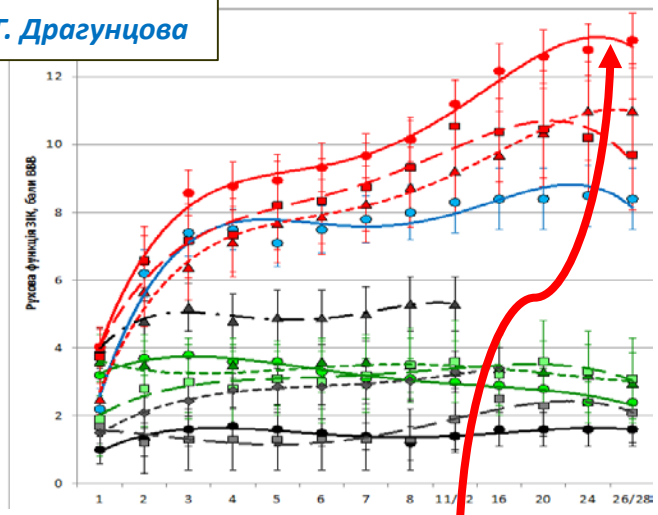


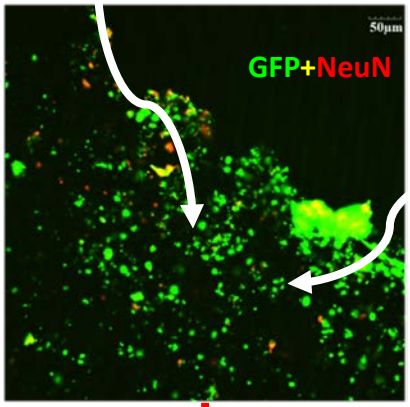
В.В.Медведєв, О.А. Рибачук, E. Pinet, Ю.Я. Ямінський, Н.Г. Драгунцова

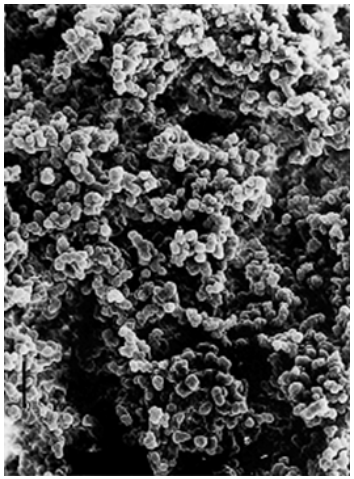


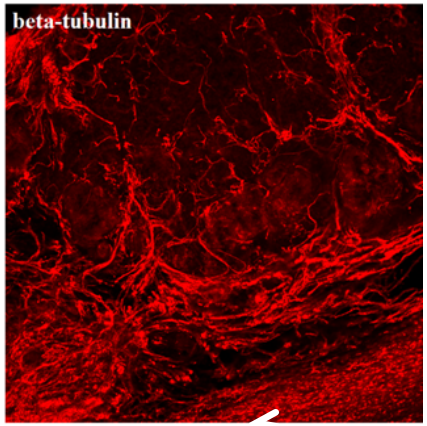


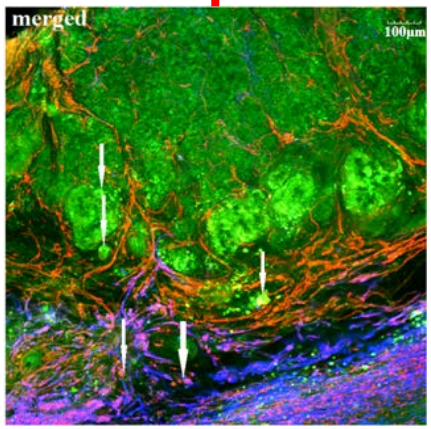


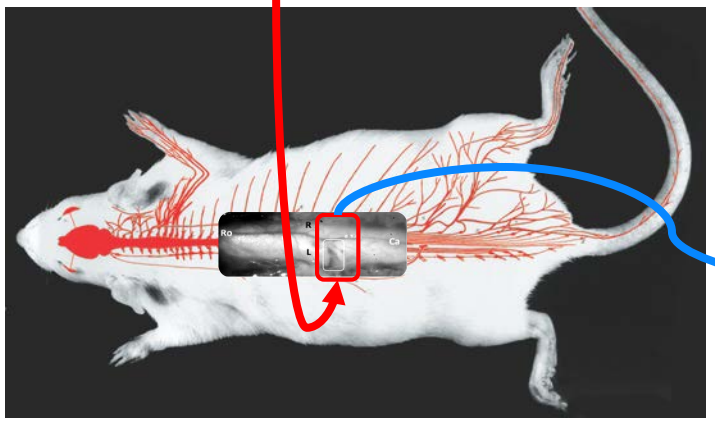


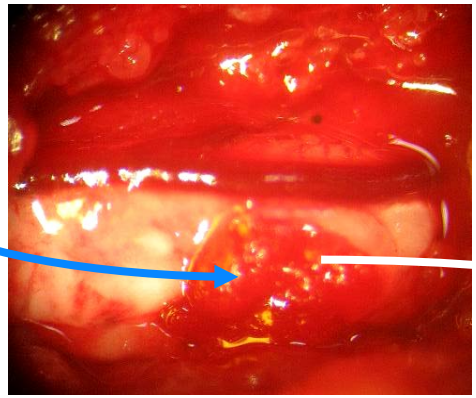


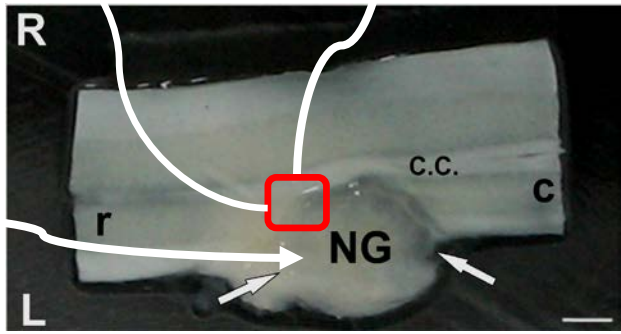






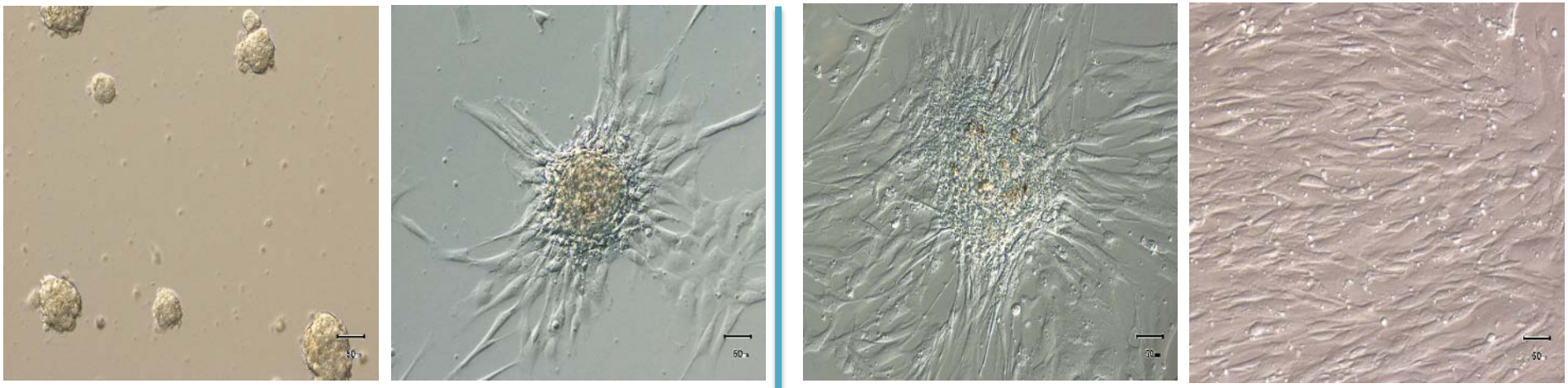




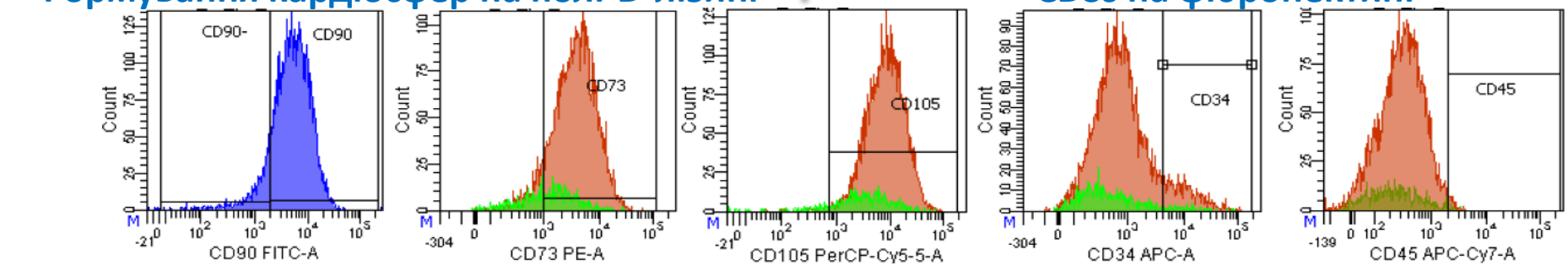


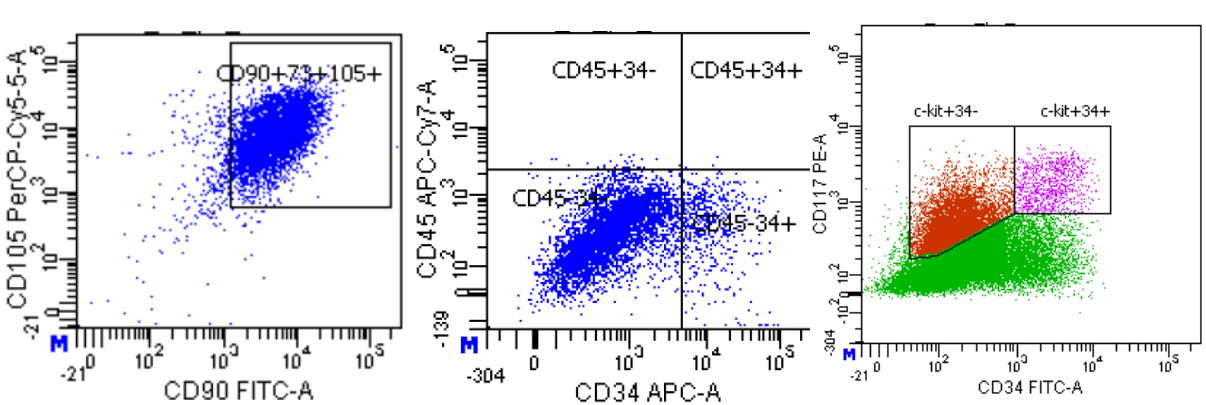
Кирик В.М., Устименко А.М., Руденко С.А., Руденко А.В.

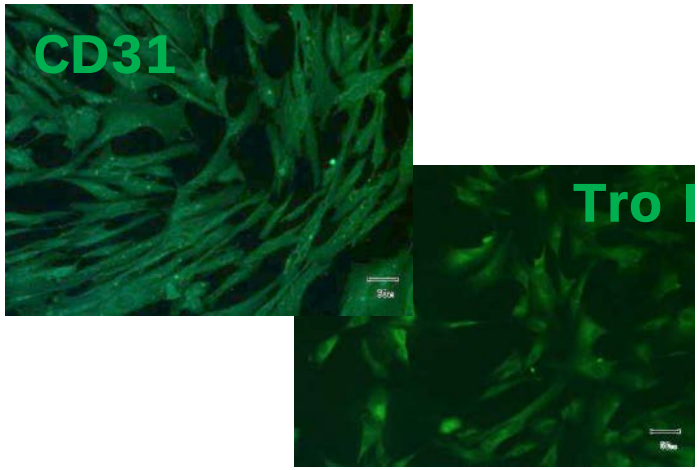
Характеристика стовбурових клітин міокарда людини



Формування кардіосфер на полі-D-лізині **CDSs на фібронектині**

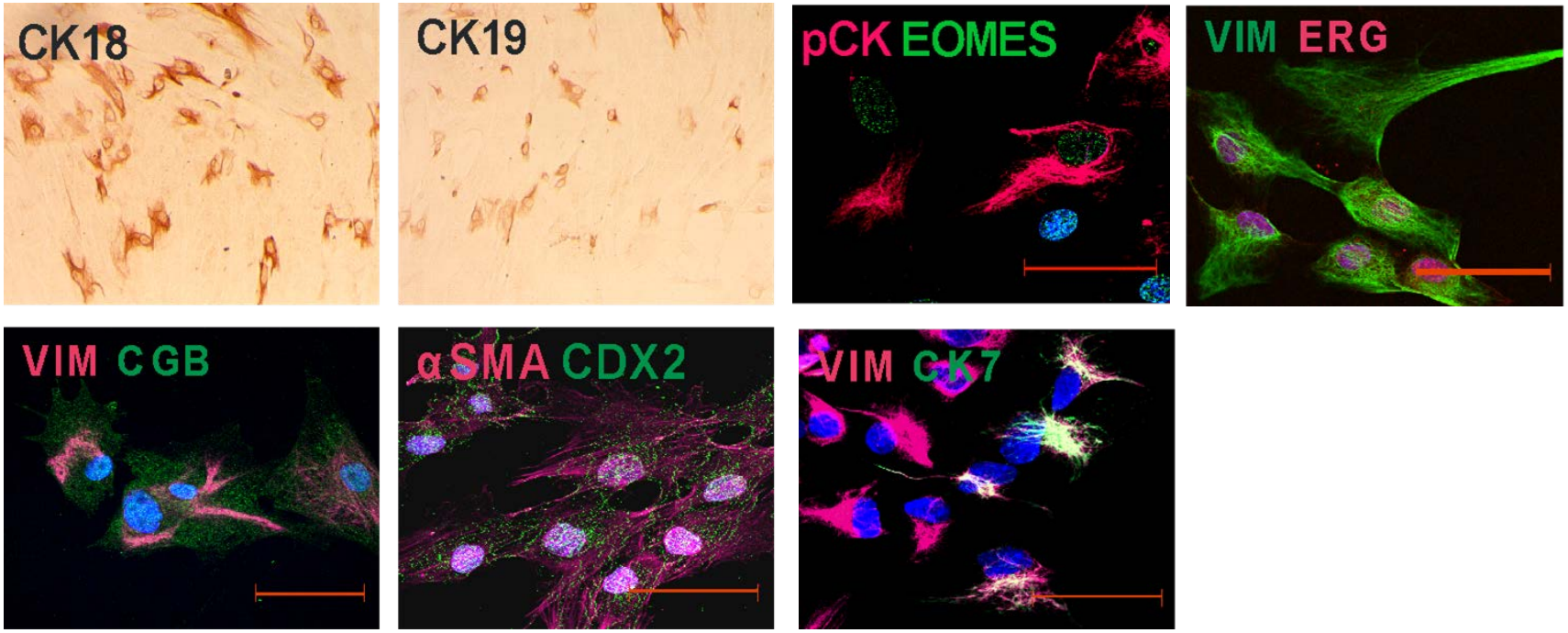






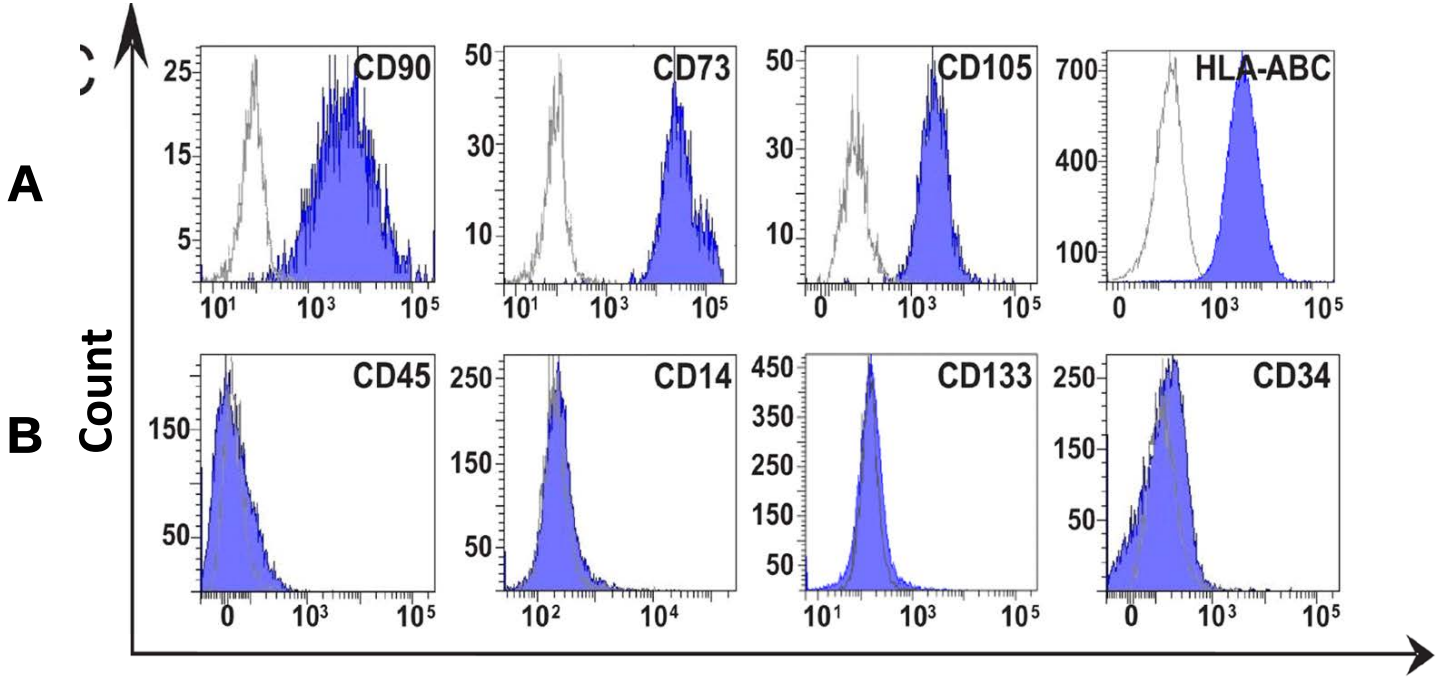
Імунофенотип CDCs

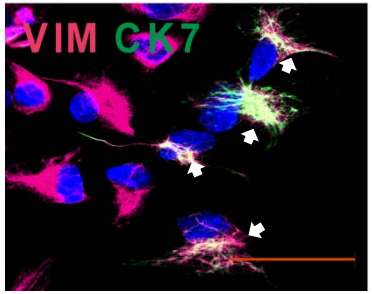
Плацентарні мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини експресують маркери мезенхіми та епітелію



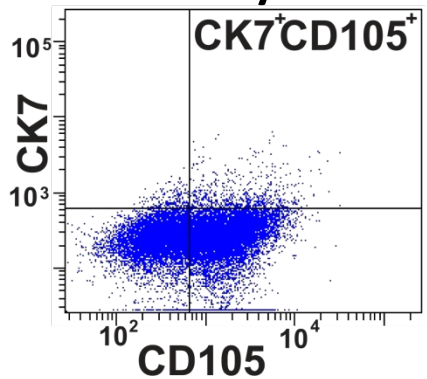
МСК плаценти експресують віментин (VIM), альфа-актин гладеньких м'язів (αSMA), цитокератини (pCK, CK7, CGB, CK18, and CK19), транскрипційні фактори CDX2, EOMES, та ERG на P3-P6; коричневий колір – позитивні клітини; ×50. Scale bar: 50 µm.

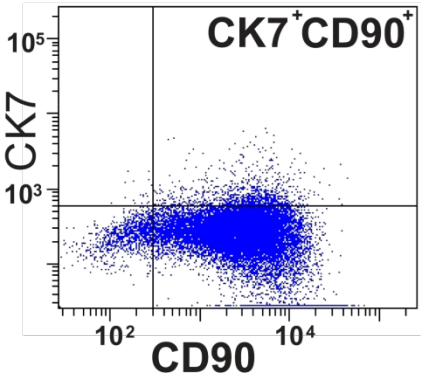
Поверхневий імунофенотип плацентарних МСК





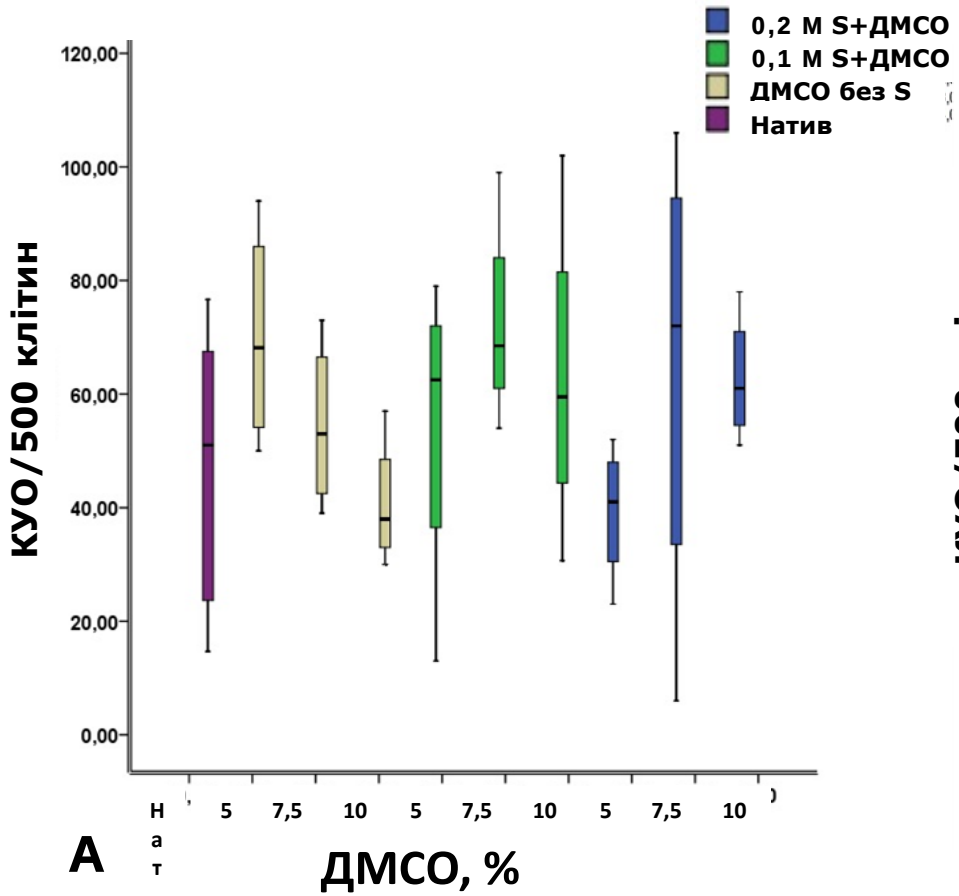
Scale bar: 50 µm.

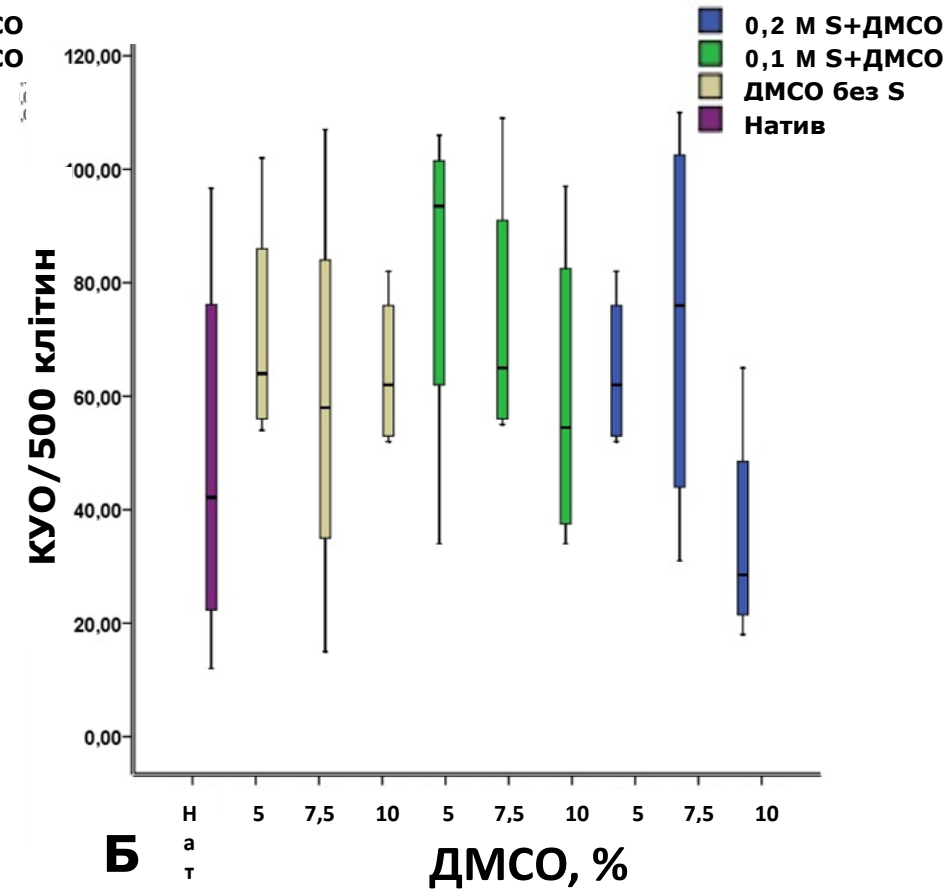




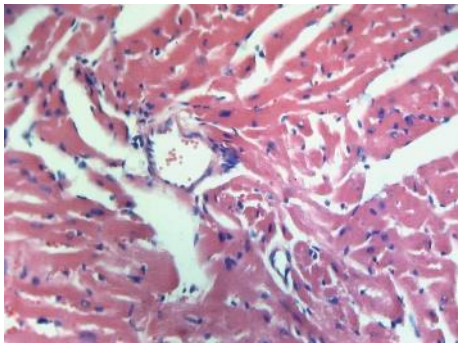
(A) пМСК позитивні на CD90, CD73, CD105, та HLA-ABC.
(B) пМСК негативні за маркерами CD34, CD14, CD45, та CD133.
(C) $Vim^{+}CK7^{+}$ пМСК експресують CD90 та CD105

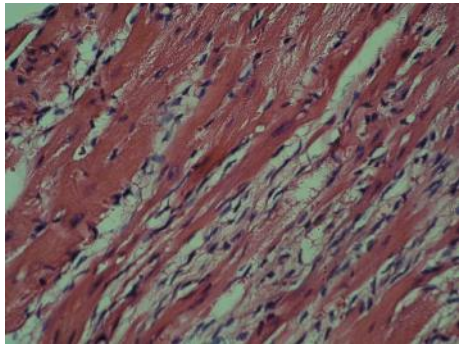
МСК з кріоконсервованої та нативної плаценти мають подібний проліферативний потенціал на пасажах2 (А) та 6 (Б)



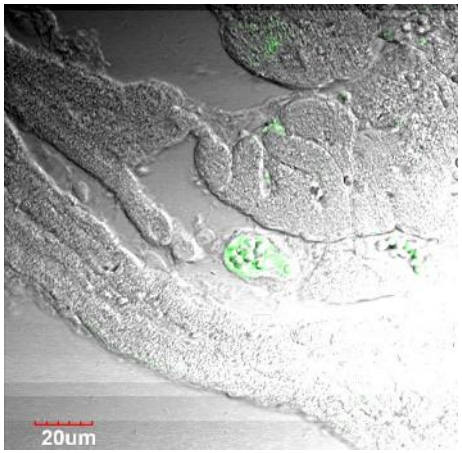


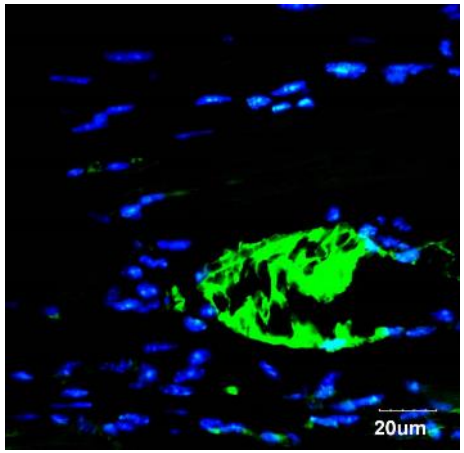
Вплив мезенхімальних стовбурових клітин плаценти людини на перебіг експериментальної кардіоміопатії



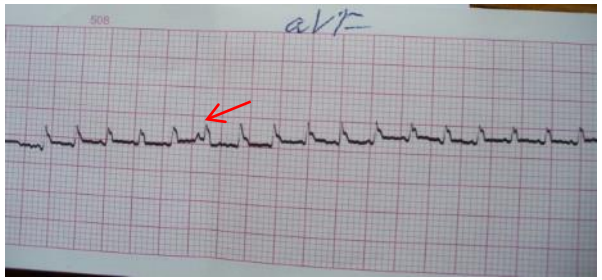


Гематоксилін та еозин забарвлюють серцеву тканину миші через 2 дні та 4 тижні після трансплантації МСКПЛ людини.

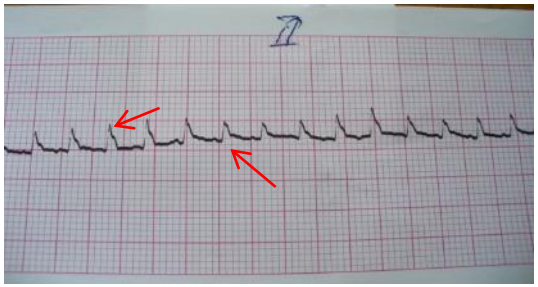




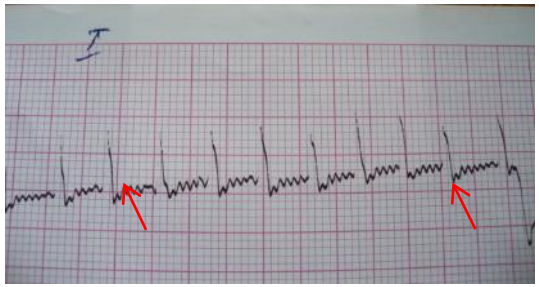
Імуногістохімічне забарвлення мітохондрій МСКПЛ (зеленого кольору) в серцевій тканині миші, 2 дні та 4 тижні після трансплантації.



Передсердна екстрасистолія, подовження и зміна QRS, ЧСС= 500 уд/хв



QRS подовження и зміна, QRS чередовання, формування кривої ST



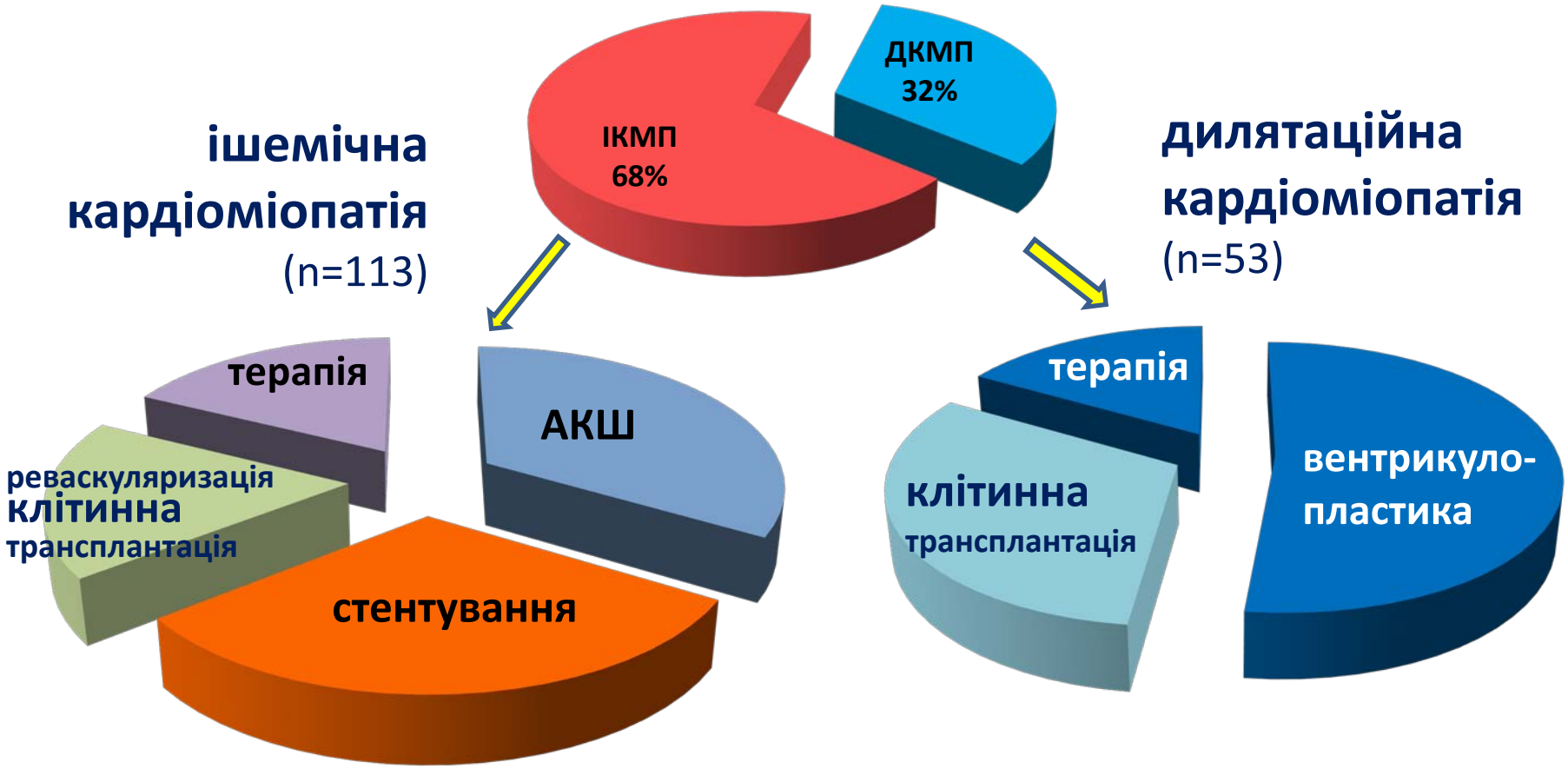
QRS подовження и зміна, QRS чередовання, депресія ST, шлуночкова екстрасистолія

	початок	21 день після втручання	28 днів після введення клітин
ЧСС, уд в хв	411±31	543±99	464±51*
QRS тривалість, сек	0,043±0,006	0,047±0,012	0,055±0,007

Kyryk V., Shablii V., Klymenko P., Tsupykov O., 2013

Дослідження ефективності трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові у лікуванні кардіоміопатії

(n=186)

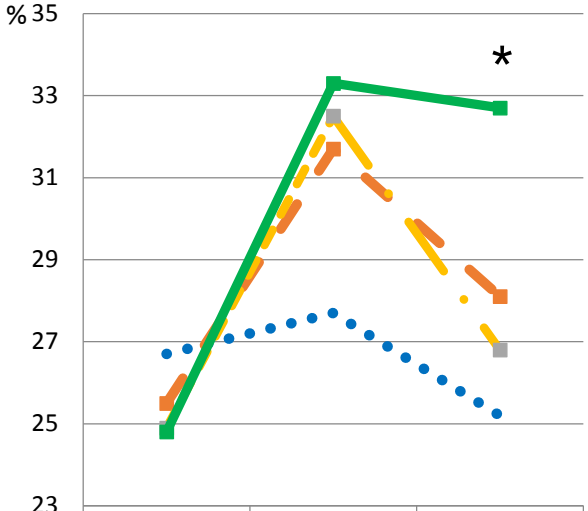


аорто-коронарне шунтування (АКШ) – n =35
стентування – n=38
реваскуляризація + **алогенна трансплантація стовбурових клітин пуповинної крові** – n=20
медикаментозна терапія – n=20

алогенна трансплантація стовбурових клітин пуповинної крові – n=20
вентрикулопластика (операція Батиста) – n=33
медикаментозна терапія – n=20

Динаміка змін фракції викиду у хворих в залежності від методу лікування

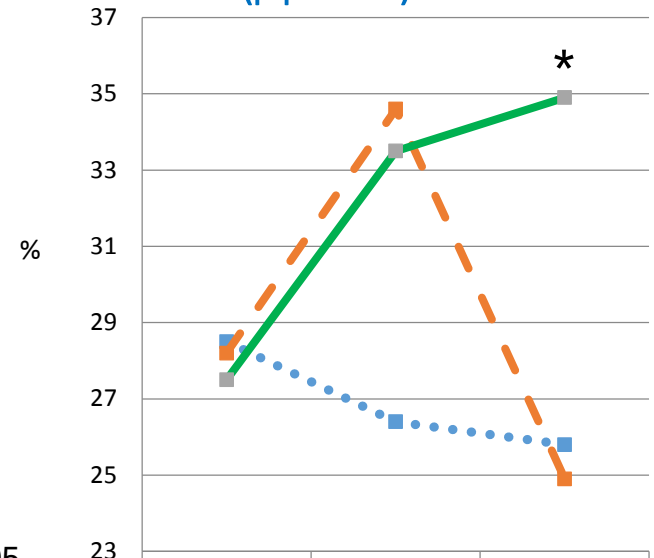
Динаміка фракції викиду лівого шлуночка у хворих з ішемічною кардіоміопатією (ІКМП)



* p<0,05

	ФВ вихідна	ФВ через 6 місяців	ФВ через 12 місяців
Консервативна терапія	26,7	27,7	25,2
АКШ	25,5	31,7	28,1
Стентування	24,9	32,5	26,8
Реваскуляризація+ТСКПК	24,8	33,3	32,7

Динаміка фракції викиду лівого шлуночка у хворих з дилатаційною кардіоміопатією (ДКМП)



* p<0,05

	ФВ вихідна	ФВ через 6 місяців	ФВ через 12 місяців
Консервативна терапія	28,5	26,4	25,8
Вентрикулопластика	28,2	34,6	24,9
ТСКПК	27,5	33,5	34,9

Порівняльна оцінка ефективності терапії стовбуровими клітинами проти консервативної терапії за рівнем річної летальності

Показник	AR,%	ARR	RR	OR
Консервативна терапія	30,0	25,0	2,5 [0,97-16,6]	**6,0 [1,08-33,3]** P<0,05
Реваскуляризація+ТСКПК	5,0			

Порівняльна оцінка ефективності терапії стовбуровими клітинами проти аорто-коронарного шунтування за рівнем річної летальності

Показник	AR,%	ARR	RR	OR
АКШ	10,5	5,5	1,05 [0,71-11,8]	**3,67 [0,73-18,5]** P<0,05
АКШ+ТСКПК	5,0			

Порівняльна оцінка ефективності терапії стовбуровими клітинами проти стентування за рівнем річної летальності

Показник	AR,%	ARR	RR	OR
Стентування	11,4	6,4	1,14 [0,69-11,7]	**3,60 [0,70-18,5]** p>0,05
Стентування+ТСКПК	5,0			

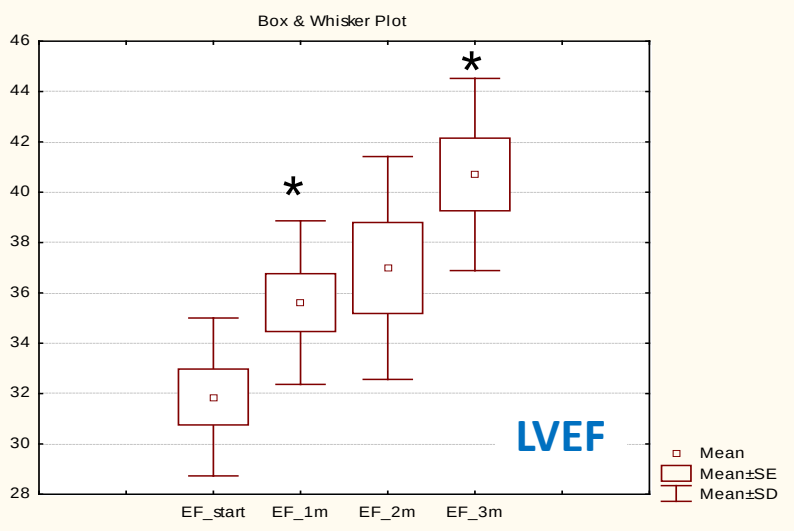
Однорічна виживаність у хворих з ішемічною кардіоміопатією

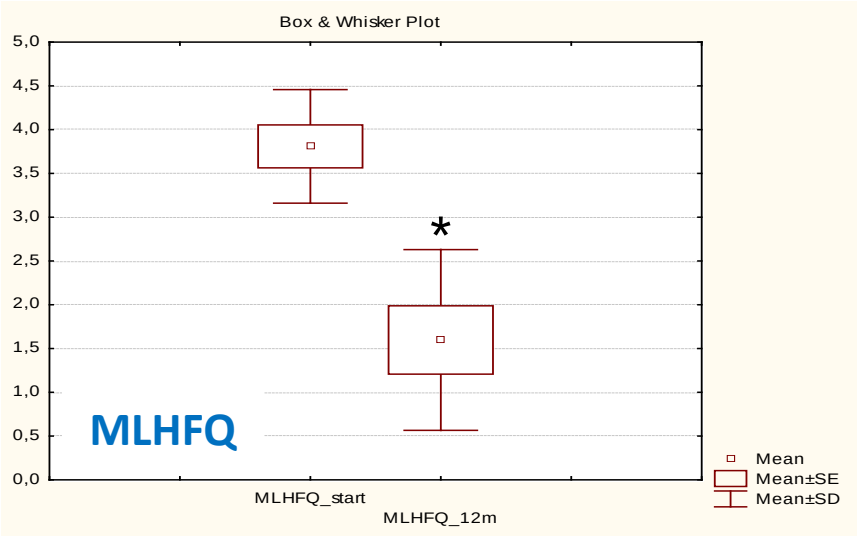
Показник	OR	χ^2	p
Консервативна терапія vs. АКШ	1,6	0,717	0,397
Консервативна терапія vs. Стентування КА	1,7	0,746	0,388
Консервативна терапія vs. Реваскуляризація+ТСКПК	6,0	5,063	**0,024**
АКШ vs. Стентування КА	1,0	0,001	0,972
АКШ vs. Реваскуляризація+ТСКПК	3,7	2,992	0,084
Стентування vs. Реваскуляризація+ТСКПК	3,6	2,823	0,093

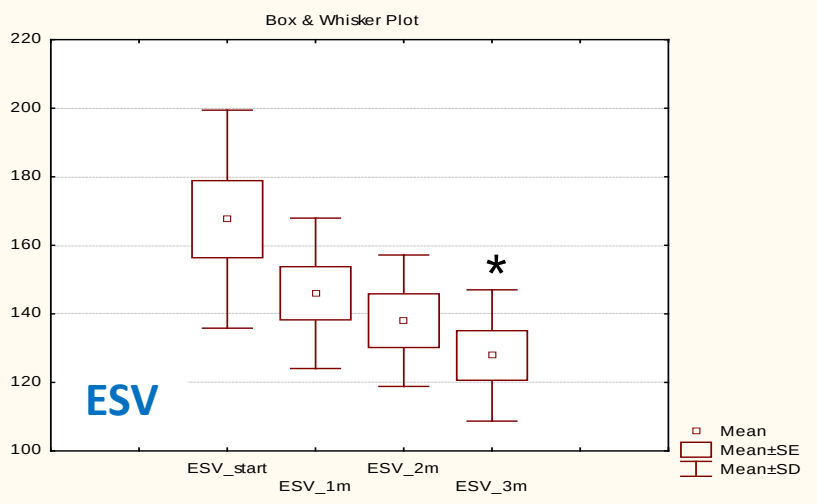
Однорічна летальність у хворих з дилатаційною кардіоміопатією

Показник	Кількість пацієнтів	Число летальних випадків	AR,%	OR	Cumulative Odds Ratio [CI%95]
Консервативна терапія	20	6	30,0	1,0	1,575 [0,68-3,67]
Вентрикулопластика	33	18	54,5	2,80	
ТСКПК	20	3	15,0	0,412	
Мантеля-Хенцеля χ^2 – 7,97 ($p<0,05$)					

Безпека та ефективність застосування стовбурових клітин плаценти при ішемічній кардіоміопатії та важкій серцевій недостатності



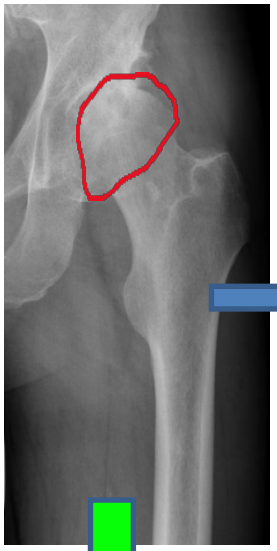


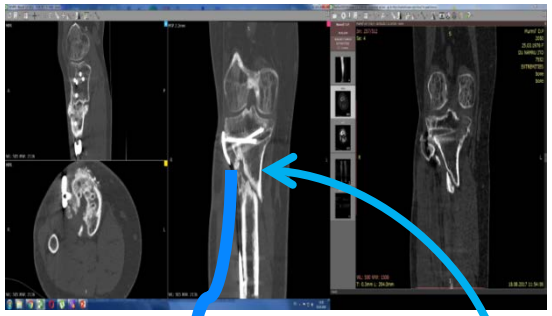


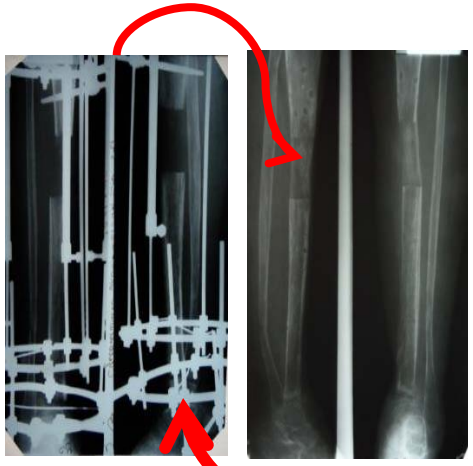
- ↑ фракції викиду лівого шлуночка
- ↓ зони рубця
- ↑ діастолічної функції
- ↓ дилятації лівого шлуночка

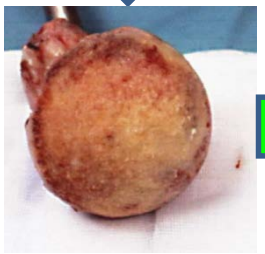
- ↓ ремоделювання лівого шлуночка
- ↑ перфузії міокарда
- ↑ якості життя
- ↑ виживання

Виготовлення і використання кісткових риштувань за допомогою технології локального кісткового банку





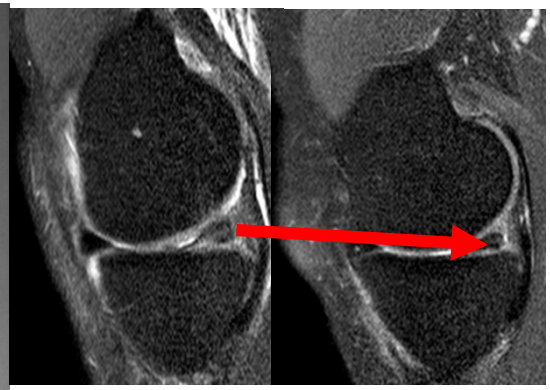




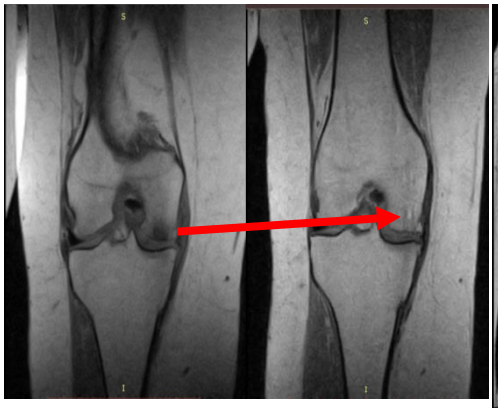
Джерело кісткового матеріалу для виготовлення риштувань – головка стегнової кістки, видалена у пацієнта при ендопротезуванні

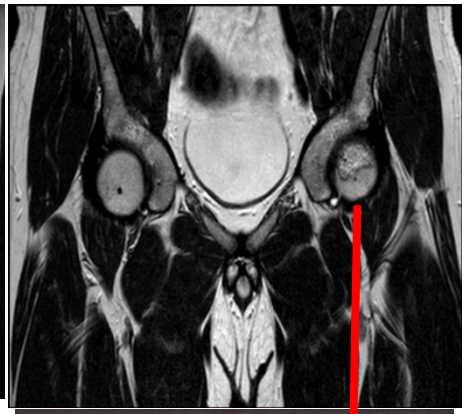
Результати застосування регенеративної ін'єкційної терапії у пацієнтів ортопедо-травматологічного профілю

Випадок успішного лікування збагаченою тромбоцитами плазмою пацієнта 32-х р. зі сповільненою консолідацією прооперованого перелому променевої кістки (*2 ін'єкції*)



Результат лікування пацієнта 50-ти р. з пошкодженням меніска колінного суглоба за допомогою аутологічного кріолізату тромбоцитів (*через 6 міс*)

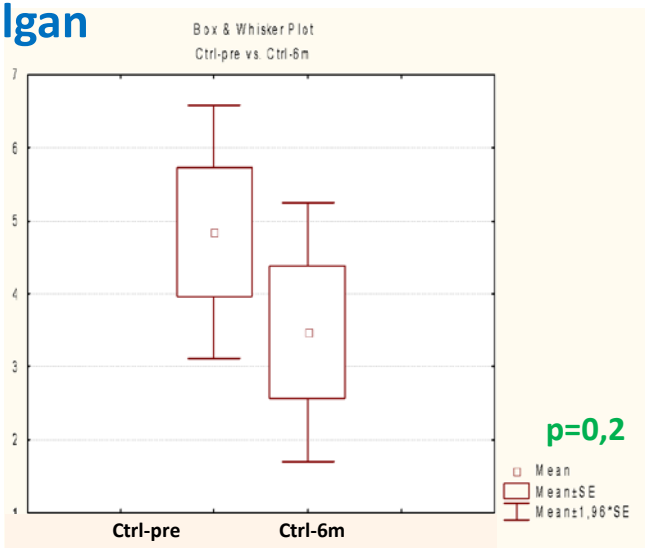




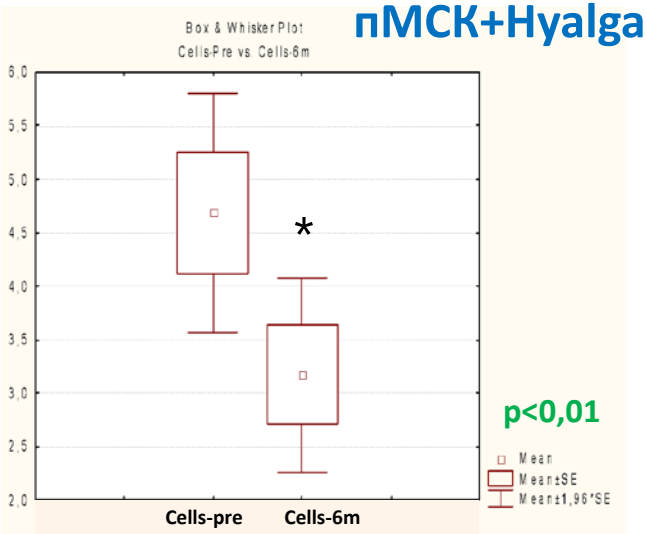
Результати лікування пацієнтів 52 р. з асептичним некрозом виростка стегнової кістки та 42 р. з асептичним некрозом головки стегнової кістки через 12 міс після внутрішньокісткового введення мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку

Ефективність застосування мезенхімальних стовбурових клітин плаценти у лікуванні хворих з остеоартрозом

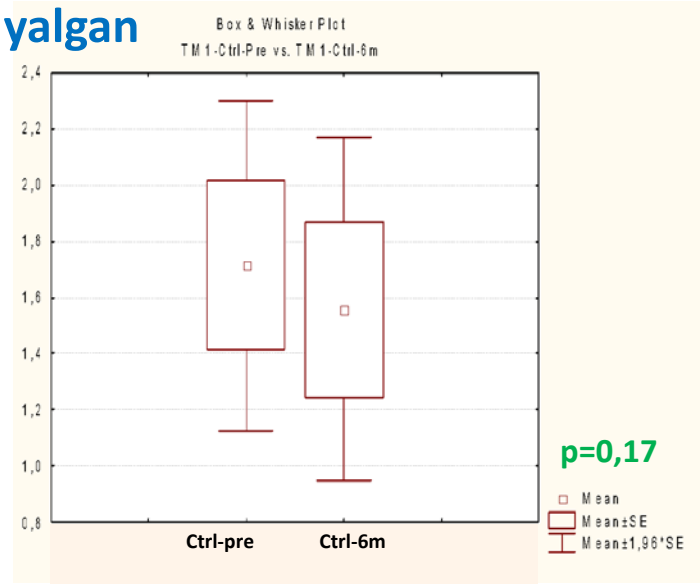
Hyalgan



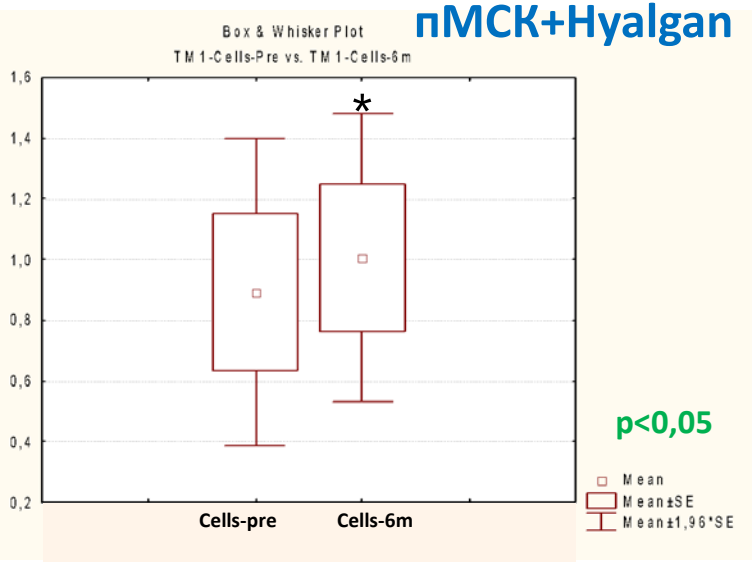
пМСК+Hyalgan



Hyalgan

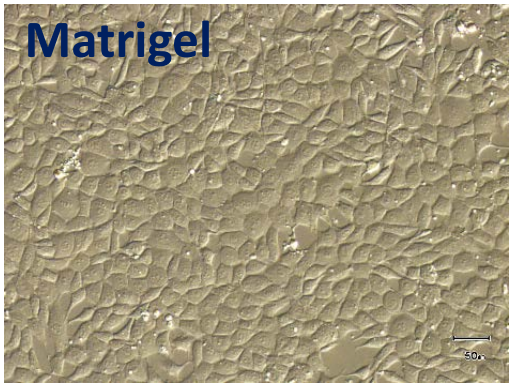


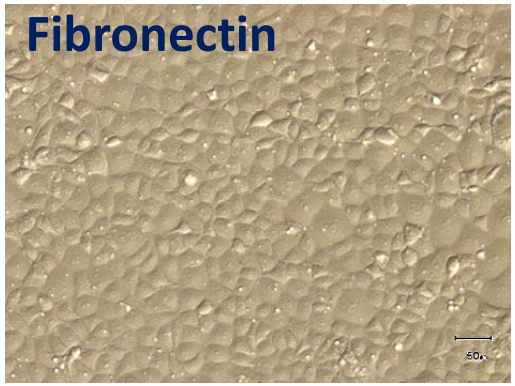
пМСК+Hyalgan

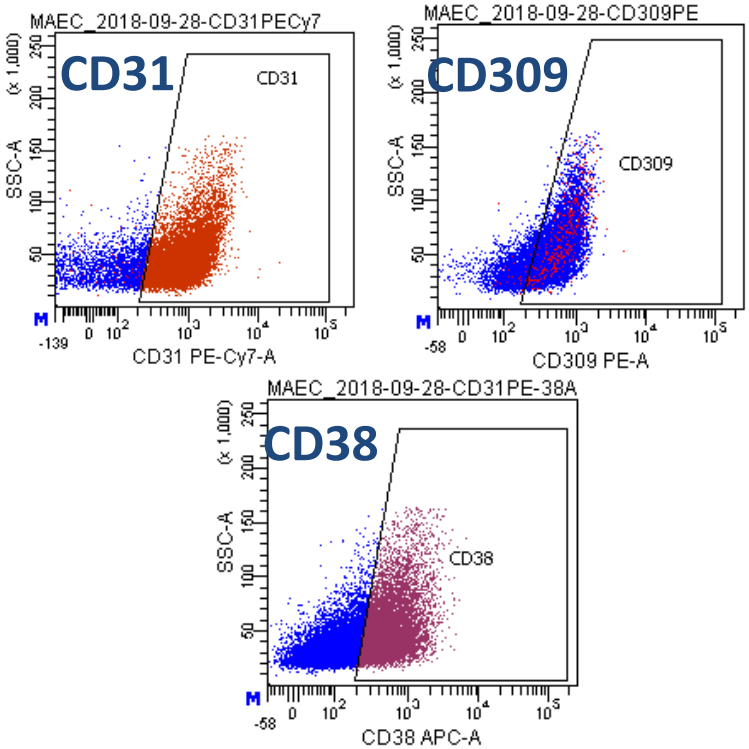


Кирик В.М., Устименко А.М.

Регенеративний потенціал ендотеліальних клітин з аорти

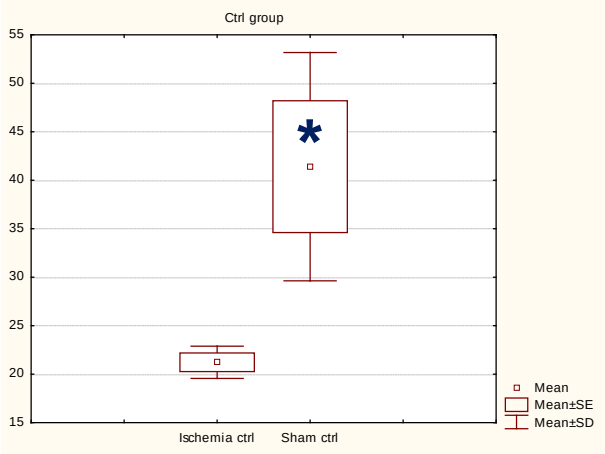




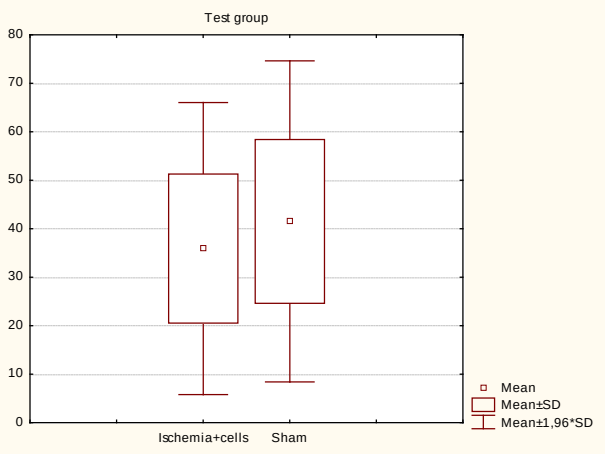


Культури mouse aorta endothelial cells (MAEC)

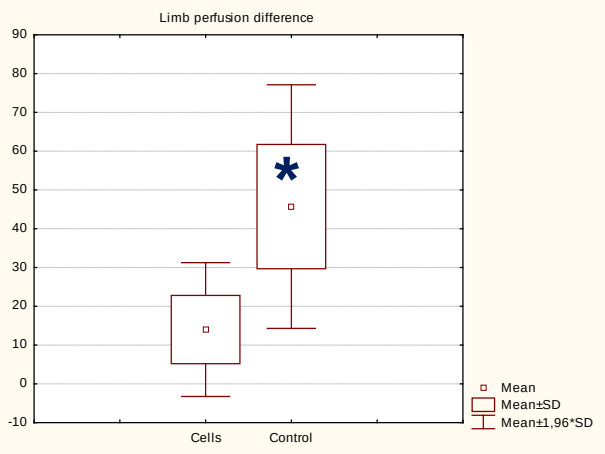
Покращення перфузії кінцівок після трансплантації MAEC



Δ = 45,7±13,1%



Δ = 14,0±8,23%

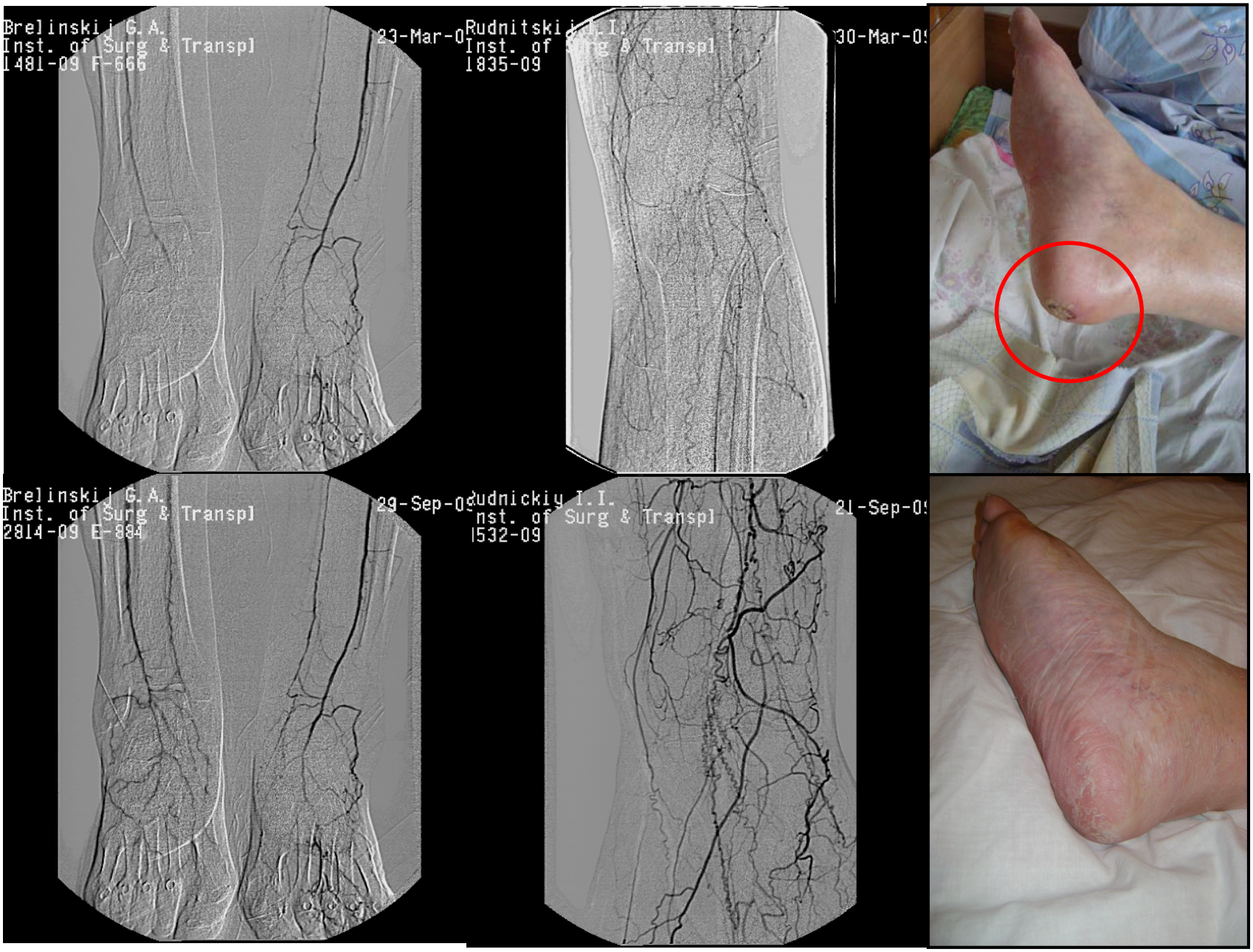


p=0,01, Wilcoxon

Регенеративні ефекти МСК жирової тканини у пацієнтів з критичною ішемією нижніх кінцівок

До лікування

Через 5 місяців



За результатами роботи сформовано концепцію критеріїв безпеки та якості клітинних трансплантатів для доклінічних та клінічних досліджень. Впровадження високотехнологічних підходів клітинної та тканинної терапії у понад 1000 пацієнтів дозволило підвищити ефективність надання високоспеціалізованої медичної допомоги, а також знизити показники інвалідизації та смертності, що має суттєве соціальне значення. Економічний ефект склав понад 260 млн. грн.

- Результати роботи висвітлено у понад 180 статтях у провідних вітчизняних та міжнародних наукових виданнях, 6 монографіях, 1 підручнику і у 2 інформаційних листах; представлено на численних вітчизняних та міжнародних наукових конференціях і конгресах (США, Японія, Німеччина, Іспанія, Швеція).
- За темою роботи отримано 40 деклараційних патентів, запропоновано 7 нововведень, видано 1 методичні рекомендації, розроблено "Ліцензійні умови провадження господарської діяльності банків пуповинної крові, інших тканин і клітин людини згідно з переліком, затвердженим Міністерством охорони здоров’я" (*затверджені Постановою КМУ №286 від 02.03.2016 р.*).
- захищено 3 дисертації на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук, 3 дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук і 1 – кандидата біологічних наук.
- Загальна кількість цитувань опублікованих праць циклу: 43 (*Web of Science*), 57 (*Scopus*) і 557 (*Google Scholar*).
- Колективний h-індекс за працями циклу – 11 (*Google Scholar*), 4 (*Scopus/WoS*).