

КЛЕТОЧНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ В КАРДИОМИОПЛАСТИКЕ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕРДЦА

А. К. ГУЛЕВСКИЙ, И. И. ЩЕНЯВСКИЙ, Е. С. АБАКУМОВА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

E-mail: danalado@rambler.ru

В обзоре обобщены данные о применении клеточной терапии для репаративной регенерации миокарда после ишемического повреждения. Рассматривается регенерационный потенциал сердечной мышцы за счет собственных клеток — предшественников кардиомиоцитов, а также перспективы клеточной терапии с помощью трансплантации эмбриональных стволовых клеток, моноклеарной фракции костного мозга, гемопоэтических стволовых клеток, фетальных и неонатальных кардиомиоцитов, имплантации в область повреждения мышечных клеток-сателлитов и очищенных миобластов. Обосновывается перспективность создания криобанков стволовых клеток, предназначенных для кардиомиопластики при остром инфаркте миокарда.

Ключевые слова: репаративная регенерация миокарда, инфаркт миокарда, клеточная терапия, стволовые клетки, криобанк стволовых клеток.

Инфаркт миокарда (ИМ) — острая необратимая ишемия сердечной мышцы — развивается в связи с абсолютной или относительной недостаточностью коронарного кровотока [1]. В зоне ишемии в течение 8–10 с расходуется связанный с миоглобином и физически растворенный кислород, в результате чего нарушается обмен метаболитов, прекращаются окислительно-восстановительные реакции, что приводит к гибели кардиомиоцитов (КМЦ) [2].

Повреждение сердечной мышцы приводит к ремоделированию миокарда — процессу последовательных адаптационных структурно-функциональных изменений, затрагивающему как зону повреждения, так и здоровый миокард. В зоне ИМ погибает большинство структурных элементов, обеспечивающих полноценное функционирование сердечной мышцы, таких как мышечные волокна, строма и сосуды. Однако при изучении возникающих рубцов в них обнаруживаются единичные гипертрофированные мышечные волокна, окруженные рубцовой тканью. Вдоль сосудов Вьессена–Тебезия или синусоидов располагаются сохранившиеся КМЦ, а также небольшие островки мышечных волокон и стромы вокруг сосудов, которые в дальнейшем играют определенную роль при замещении области инфаркта соединительной тканью, являясь своеобраз-

ными индукторами роста. Сохранение мелких островков мышечной ткани среди рубцовых полей указывает на резервные возможности миокарда [3].

Одним из новых подходов в лечении заболеваний, связанных с гибелью клеточных элементов, который имеет реальные перспективы практического использования в XXI в., является клеточная терапия. В основе этого метода лежит трансплантация различного клеточного материала (эмбриональных и постнатальных стволовых клеток костного мозга, фетальных прогениторных клеток, мышечных клеток-сателлитов) внутривенно, в сосуды, питающие орган-мишень, интраорганно (рис. 1).

Впервые кардиомиогенные свойства клеток красного костного мозга *in vivo* были описаны Bittner и соавт. [4]. Дальнейшие более детальные исследования свойств этих клеток, обладающих способностью после ишемического повреждения миокарда становиться клетками с фенотипом кардиомиоцитов и замещать погибшие клетки сердца хозяина, были проведены Orlic и соавт. [5], что привлекло большое внимание к клеточной терапии как ученых, так и практикующих медиков.

Свойство репарации после повреждения присуще многим органам и тканям взрослого организма благодаря наличию в них популяций клеток-предшественников, способ-

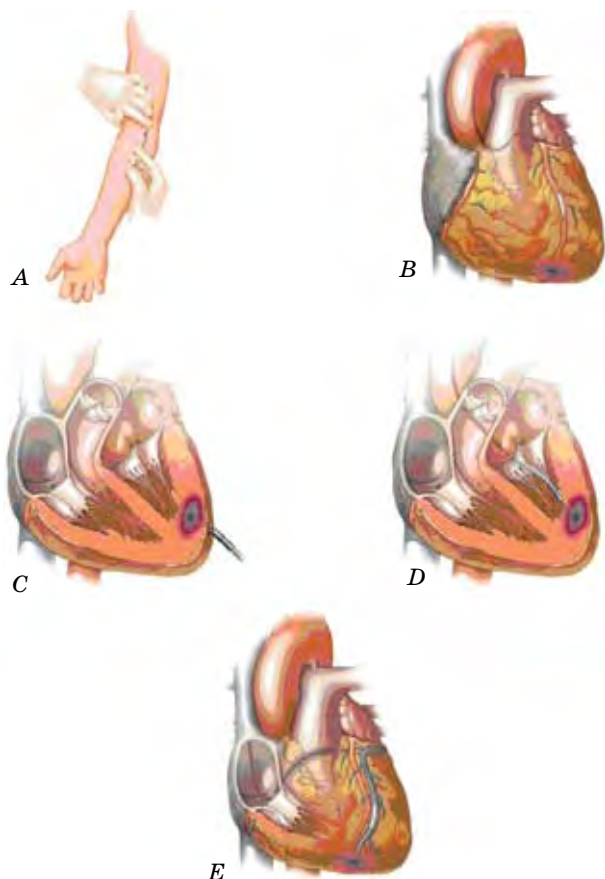


Рис. 1. Методы введения клеток при сердечной имплантации:

A — внутривенное введение; *B* — интракоронарная инфузия через баллонный катетер после восстановления артериального просвета; *C* — трансэпикардальная инъекция путем торакотомии в ограниченную зону инфаркта; *D* — транскардиально, с использованием определения жизнеспособности ткани с помощью электромеханической вольтовой карты для приблизительного обозначения инфарцированной зоны; *E* — внутривенная инъекция в коронарную вену через коронарный синус, дающая возможность вводить клетки в область миокарда, что может применяться при окклюзии коронарных сосудов [http://www.mayoclinicproceedings.com/content/84/10/876.long]

ных к самообновлению и отвечающих за тканевый гомеостаз. Клетки-предшественники характерны для эпидермиса [6], эпителия кишечника [7], печени [8], костного мозга (КМ) [5], подкожной жировой ткани [9] и т. д. Однако в течение длительного времени считалось, что миокард человека не обладает достаточной способностью к восстановлению.

Возможность репаративной регенерации миокарда

Представления о КМЦ как о терминально дифференцированных клетках сложились в 20-е г. прошлого века после работ морфологов, показавших, что гипертрофия миокарда происходит исключительно вследствие увеличения объема КМЦ, а не из-за повышения количества клеток [10]. Тот факт, что в кардиомиоцитах используемыми методами не удавалось выявить «митотические фигуры», также служил подтверждением их статичности [11, 12].

Вплоть до 80-х г. прошлого века считалось, что сердце взрослых млекопитающих построено в основном из КМЦ, находящихся в постмитотическом состоянии, и не содержит эндогенной популяции стволовых клеток (СК). После рождения КМЦ сердца человека прекращают деление, и в процессе онтогенеза миокард содержит относительно постоянное число сократительных элементов. После ИМ сердце не способно восстанавливать необходимое для нормального функционирования количество сократительных единиц, а может лишь увеличивать массу за счет клеточной гипертрофии, но не гиперплазии, поскольку клеточная репаративная регенерация миокарда невозможна: КМЦ не пролиферируют, замещение дефекта сердечной мышцы происходит в основном вследствие пролиферации клеток стромы (фибробластов) [13]. Митотическое деление КМЦ завершается кариокинезом, а регенерация — полиплоидизацией КМЦ.

Вместе с тем известно, что миокард некоторых групп животных после различных повреждений способен восстанавливаться без формирования рубца активной пролиферацией собственных КМЦ. Прежде всего это свойство присуще амфибиям, например тритонам [14]. Замещение произведенного хирургическим путем дефекта в результате деления КМЦ при минимальном рубцевании продемонстрировано в опытах на аквариумной рыбе *Danio rerio* [15]. Предполагают, что этот процесс в некоторой степени повторяет эмбриогенез, для которого характерна последовательная экспрессия генов кардиомиоцитарной дифференцировки (Nkx-2,5, GATA-4, GATA-5, Tbx-5). Способностью восстанавливать миокард без рубцевания наделены и мыши линии MRL, т. е. млекопитающие. Их КМЦ способны вступать в S-фазу и замещать поврежденный в результате криодеструкции участок ткани миокарда [16]. Очевидно, эта наследуемая способность связана

с экспрессией матриксных металлопротеиназ, а также их ингибиторов.

В последние десятилетия появилось много исследований, показавших, что КМЦ способны делиться подобно клеткам многих других органов и тканей [17, 18]. Было установлено, что ни одна из популяций КМЦ (желудочковые, предсердные, проводящей системы) взрослых млекопитающих не является чистой популяцией необратимых постмитотических клеток. При обширных ИМ левого желудочка в предсердиях млекопитающих обнаруживается до 40% клеток, способных вступать в митоз, а в перинфарктной зоне желудочкового миокарда — около 10% [13]. Обычно реактивная репродукция КМЦ взрослых животных напоминает пролиферацию при нормальном кардиомиогенезе: лишённые миофибрилл миобласты не образуются путем дедифференцировки; участвующие в реактивной пролиферации КМЦ зафиксированы в составе мышечных трабекул вставочными дисками и десмосомами; продолжительность митотических циклов практически равна самым длинным циклам в постнатальном кардиомиогенезе [13]. Однако пролиферация КМЦ наблюдается в основном по периферии некротических очагов или диффузно; митозы КМЦ, заканчивающиеся цитокинезом, редки и, следовательно, не могут заместить дефект, возникший в результате ИМ.

Гибель КМЦ, подвергнутых гипоксии, происходит вследствие апоптоза [19]. Возможно, именно апоптоз модулирует клеточные повреждения и сращивание эндотелия, приводящие к закупорке сосудов [20]. У людей без сердечной патологии интенсивность этого процесса незначительна, но при кардиомиопатиях возрастает как некротическая гибель КМЦ, так и апоптоз. Такие потери клеток миокарда должны постоянно восполняться, что подтверждают результаты исследований [21, 22].

Показано, что декомпенсационная гипертрофия миокарда, представляющая собой сочетание процессов гипертрофии и гиперплазии кардиомиоцитов, сопровождается увеличением их количества на 20–100% [22], повышением митотического индекса примерно в 10 раз по сравнению со здоровым миокардом. Исходя из суммарной продолжительности всех фаз митоза (около 1 ч) было подсчитано, что полное обновление сердечной мышцы 45-летнего мужчины без сердечной патологии происходит через 10 лет, т. е. в год миокард обновляется на 10% [23]. На основании анализа соотношения 1-, 2-

и 4-ядерных КМЦ в левом желудочке, которое составляет 2:1:1, был сделан вывод, что потенциальный прирост КМЦ может достигать $0,4 \times 10^9$ клеток в год [24]. Хотя такой прирост не может полностью компенсировать гибель КМЦ при ИМ, поскольку скорость замещения дефекта путем образования рубцовой ткани значительно выше, очевидно, имеет место частичное возмещение популяции КМЦ пролиферацией и внутриклеточной регенерацией КМЦ.

Интенсивность пролиферации КМЦ может возрастать при различных патологических процессах, в том числе и при ИМ [47]. В перинфарктной зоне миокарда людей, умерших на 4–12-е сутки ИМ, обнаружили 70-кратное увеличение пролиферативной активности КМЦ, а в межжелудочковой перегородке, удаленной от зоны некроза, — почти 30-кратное [22, 25]. По расчетам авторов ИМ должен был бы регенерировать полностью за 18 сут. В действительности это не происходит, поскольку КМЦ активно пролиферируют только в перинфарктной области, а не в очаге некроза, где в это время отмечается активная пролиферация фибробластов, формирующих рубец.

Благодаря использованию современных иммунофлуоресцентных и геномно-протеомных методов стало возможным идентифицировать КМЦ среди множества других типов клеток сердца и зарегистрировать в них появление специфических протеинов, участвующих в репликации ДНК [22], что позволило исследовать процесс деления клетки без фиксации классической картины митоза. В результате морфологических исследований было установлено, что КМЦ делятся, хотя и сравнительно редко [26].

С помощью современных методов исследований удалось доказать присутствие в сердце взрослого организма клеток-предшественников, которые, по-видимому, отвечают за фоновое обновление КМЦ в течение жизни [27]. Было обнаружено, что зрелые КМЦ также могут входить в митотический цикл и делиться. Из сердца взрослого организма были получены стволовые клетки сердца (СКС), которые не только сами экспрессировали маркеры стволовых клеток, но и при культивировании *in vitro* давали клоны, экспрессирующие биохимические маркеры КМЦ, гладкомышечных клеток (ГМК) и клеток эндотелия [28].

В работах [28, 29] также было показано присутствие в миокарде СКС, обеспечивающих регенерацию сердца после ИМ. Эти клетки не экспрессировали факторы транскрипции и структурные протеины КМЦ

и гладкомышечных стволовых клеток (ГСК). При остром и хроническом инфарктах обнаружено увеличение по сравнению с контролем количества делящихся клеток, определяемого по уровню активности теломеразы — энзима, осуществляющего пострепликативное достраивание ДНК теломерных участков, в 20 и 10 раз соответственно. Митотический индекс СКС при остром ИМ возрастал в 29 раз, а при хроническом — в 14 раз. Количество коммитированных в КМЦ гладкомышечных и эндотелиальных клеток возрастало в 85 и в 25 раз, а количество апоптотических СКС — в 4 и в 2 раза соответственно [30]. Объем СКС составил $203 \pm 50 \mu\text{m}^3$, что значительно уступает другим типам клеток сердца. Количество СКС в жизнеспособном миокарде возрастало до 40 тыс./см³ ткани в пограничной зоне и до 20 тыс./см³ — в периферических участках. Следовательно, в миокарде взрослого организма присутствует пул СКС, а их активация происходит главным образом при ишемических состояниях как ответ на гипоксию ткани.

В настоящее время существуют две гипотезы относительно происхождения СКС. Согласно одной, это клетки, сохранившиеся с эмбриогенеза и не прошедшие все стадии дифференцировки [31]. Было показано, что выделенные и очищенные сердечные Sca-1+ клетки при их системном введении специфически мигрируют в ишемизированный миокард, где способны дифференцироваться в сокращающиеся КМЦ, гладкомышечные и эндотелиальные клетки [32]. Значительное их количество сливается с присутствующими там КМЦ. Связь этих клеток с СКС — кардиомиогенными предшественниками КМЦ, сохраняющими способность к пролиферации при ИМ, пока не ясна [2, 32]. По основным характеристикам эти клетки были определены как мультипотентная, самообновляющаяся, клоногенная популяция клеток, дающая *in vitro* и *in vivo* начало КМЦ, гладкомышечным и эндотелиальным клеткам. Благодаря их локальному введению в сердце крыс поврежденная ткань миокарда восстанавливалась на 70% [32].

Клоногенные предшественники КМЦ, способные образовывать клеточные кластеры в культуре, были также получены из взрослого сердца мышей и человека. Эти клетки по своим характеристикам аналогичны малым КМЦ, содержащимся в регенерировавшем миокарде [33]. В зависимости от механической нагрузки на тот или иной участок ткани сердца в нем может локализоваться та или иная группа клеток, выполняющих спе-

цифические функции. Участки с наименьшей нагрузкой являются нишами для образования кластеров СКС [34, 35]. Незрелые клетки в них формируют контакты с окружающими поддерживающими клетками посредством интегринов и коннексинов [35]. Следовательно, регенерация миокарда происходит за счет собственных СКС, однако активность этого процесса очень низка.

Согласно другой гипотезе, СКС в миокарде взрослых млекопитающих появляются в процессе воспаления в результате их миграции из КМ с участием специфических медиаторов. Эти клетки приживаются в миокарде, дифференцируясь в КМЦ, эндотелий, ГМК, либо сливаются с существующими КМЦ, способствуя постинфарктной регенерации [36]. Хоуминг циркулирующих прогениторных клеток из КМ был показан при пересадке женского донорского сердца мужчине с последующим выявлением локализации КМЦ, несущих Y-хромосому, и этих же клеток в коронарных сосудах пересаженного сердца [37, 38].

Таким образом, во взрослом сердце клетки, способные дифференцироваться в КМЦ, происходят либо от циркулирующих в крови клеток-предшественников, коммитированных в соответствующем кардиомиоцитарном направлении, либо от предшественников КМЦ, оставшихся в миокарде после эмбриогенеза (т. е. СКС). Регенерация миокарда, в частности постинфарктная, возможно, обеспечивается сочетанием двух вышеуказанных механизмов, а также слиянием циркулирующих клеток-предшественников с КМЦ.

В связи с тем, что репаративная регенерация миокарда за счет пула собственных клеток-предшественников хотя и возможна, но происходит очень медленно, в настоящее время появился ряд новых методов, направленных на активацию регенеративных процессов в сердечной мышце. Благодаря достижениям последних лет в области клеточной терапии перспективным направлением является использование различных типов клеток, в том числе стволовых, с целью репаративной регенерации миокарда (рис. 2).

Трансплантация фетальных и неонатальных кардиомиоцитов

Трансплантация фетального клеточного материала имеет ряд преимуществ по сравнению с пересадкой целого органа. Прежде всего это снижение риска посттрансплантационных осложнений благодаря слабой экспрессированности антигенов гистосовместимости.



Рис. 2. Преимущества и недостатки различных типов клеток, выделенных из разных источников, при использовании в клинических экспериментах.

EPC — эндотелиальные клетки-предшественники; HSC — гематопоэтические стволовые клетки;
MSC — мезенхимальные стволовые клетки

[<http://www.mayoclinicproceedings.com/content/84/10/876.long>]

Фетальные клетки обладают высоким пролиферативным потенциалом и способностью к дифференцировке, продуцируют факторы роста и регенерации [39, 40]. Кроме того, клеточная трансплантация значительно дешевле органной.

Было показано, что фетальные КМЦ крыс и новорожденных крысят способны образовывать структурированную сердечноподобную ткань как *in vitro*, так и после трансплантации в миокард или подкожно [7, 9, 41]. После пересадки донорские КМЦ располагались параллельно КМЦ реципиента [42], в миокарде отмечались неангиогенез, уменьшение степени экспансии постинфарктного рубца. Однако в отдаленные сроки после трансплантации вокруг пересаженных клеток возникали признаки хронического отторжения, несмотря на введение циклоспорина [7]. Трансплантация фетальных КМЦ оказалась более успешной, чем трансплантация КМЦ новорожденных крысят. Выживали 92% фетальных клеток и 50% КМЦ 5-дневных крысят, а клетки, выделенные из сердец 22-дневных (молодых) и 32-дневных (взрослых) крыс, не выживали [41]. Вместе с тем есть данные, что трансплантация аутогенных взрослых предсердных КМЦ в поврежденный миокард ведет к переживанию их в рубцовой ткани в течение 5 нед [43]. Трансплантированные клетки способствовали предотвращению дилатации миокарда, сохранению толщины его стенки и экспансии рубца.

Применение современных методов исследований, таких как иммуноцитохимический анализ и др., дало возможность однозначно подтвердить или опровергнуть способность дифференцировки тех или иных типов клеток в кардиомиоциты (рис. 3).

Исследования по пересадке фетальных КМЦ, выращенных в ячейках вспененного силиконового геля, на поверхность поврежденного миокарда и под кожу бедра крыс показали переживание пересаженных клеток и ангиогенез в трансплантате [44], уменьшение размеров инфарктированного участка. Также наблюдалась деструкция силиконовой матрицы. При внедрении клеточных конструкций с фетальными КМЦ в рубец миокарда крыс после ИМ в полимерных подержках через 3 мес продолжалось формирование жизнеспособной ткани и происходил неангиогенез [45].

При изучении распределения клеточных контактов между пересаженными КМЦ и клетками реципиента в зоне границы экспериментального ИМ установлено, что пересаженные в постинфарктный рубец КМЦ но-

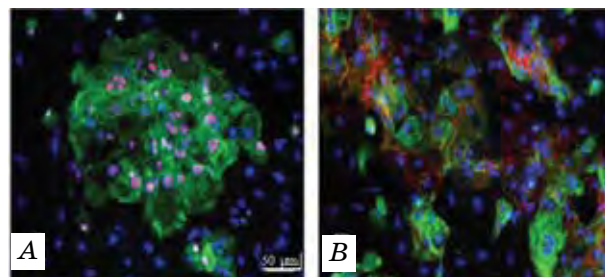


Рис. 3. Человеческие эмбриональные стволовые клетки, развивающиеся в кардиомиоциты, представляют четкий сердечный фенотип, отчетливо определяемый по специфическим сердечным маркерам, что показано с помощью иммуноцитохимического анализа:

A — сердечный тропонин I (зеленый) и Nkx2,5 (красный); **B** — тяжелые цепи саркомерного миозина (зеленый) и N-кадгерин (красный). Ядра окрашены DAPI (синий)

[<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2607193/?tool=pubmed>]

вопложденных крысят через 4 дня после трансплантации образовывали продольные и поперечные щелевые контакты друг с другом и с КМЦ хозяина [42]. Вместе с тем, данные, полученные другими исследователями [46], свидетельствуют, что через 8 нед после трансплантации в рубец КМЦ большинство пересаженных клеток отделено от миокарда рубцовой или грануляционной тканью. Лишь в 40% сердец имели место единичные контакты пересаженных клеток с миокардом хозяина. Следовательно, трансплантация КМЦ в рубцовую ткань спустя 1 мес после ИМ приводит к изоляции пересаженных от миокарда реципиента клеток, поскольку процессы ремоделирования к этому времени практически завершаются. Данных, свидетельствующих об образовании электромеханической связи между КМЦ реципиента и трансплантируемыми КМЦ через рубцовую зону, в этом случае получено не было.

Таким образом, успех трансплантации КМЦ в миокард, очевидно, определяется возможностью их взаимодействия с КМЦ реципиента и микроокружением. Вероятность образования клеточных контактов между КМЦ донора и реципиента сохраняется до разворачивания процесса естественного постинфарктного ремоделирования ткани миокарда. Если же КМЦ пересаживаются в рубец, то они оказываются в изоляции и, вероятнее всего, не смогут принимать участия в систоле миокарда реципиента. Более перспективной в плане образования клеточных контактов между КМЦ донора и реципиента является трансплантация КМЦ в пограничную зону ИМ.

Имплантация мышечных клеток-сателлитов и очищенных миобластов в область повреждения

Способность трансформироваться в КМЦ демонстрируют также так называемые «мышечные клетки-сателлиты» и выделенные из скелетной мышцы и очищенные миобласты [47]. Мышечные клетки-сателлиты (менее 5% всех миоцитов) представляют собой мышечную популяцию СК, поэтому они сохраняют достаточно высокий потенциал превращения в высокодифференцированные миоциты, в том числе в КМЦ. Начиная с 90-х годов прошлого века активно проводились эксперименты по пересадке скелетных миобластов в миокард.

У эмбриона и новорожденных миобласты составляют значительную часть клеток скелетных мышц. Сателлитные клетки *in situ* дифференцируются в клетки поперечно-полосатой мускулатуры. Однако при их совместной инкубации *ex vivo* с фетальными и неонатальными КМЦ до 10% клеток может коммитироваться в КМЦ [48]. Очищенные же миобласты, с самого начала являясь высокодифференцированными клетками, практически утрачивают способность делиться и не самовоспроизводятся, однако после обработки местным анестетиком или специальной процедуры прекондиционирования способность их к митозу восстанавливается, по крайней мере *in vitro*.

Из скелетной мышцы выделили сателлитные клетки, прокультивировали с ³H-тимидином, а затем внедрили их в поврежденный миокард собаки [49]. Спустя 18 нед после трансплантации было обнаружено наличие изотопной метки в пределах плотного рубца, что подтвердило выживание пересаженных клеток. При этом выявили наличие вставочных дисков между пересаженными клетками, в которых наблюдались центрально расположенные ядра, подобные таковым в волокнах сердечной мышцы. Следовательно, сателлитные клетки в соответствующем микроокружении дифференцировались в КМЦ-подобные клетки.

В экспериментах по трансплантации скелетных миобластов мыши в здоровый миокард крысы иммуногистохимически было установлено наличие на третьем месяце после пересадки дифференцированных мышечных трубочек. При этом электронная микроскопия не выявила наличия контактов между клетками трансплантата и реципиента [50]. Имеется значительное количество данных, свидетельствующих о неспособности донорских миобластов образовывать кон-

такты с КМЦ реципиента [49, 51, 52]. Вместе с тем есть сообщения и о фактах формирования примыкающих к зоне инфаркта КМЦ новых вставочных дисков, что свидетельствует о потенциальной возможности участия скелетной мышечной ткани в механической и электрической систоле миокарда [42, 53]. Установлено возникновение клеточных контактов между пересаженными миобластами и КМЦ реципиента [54]. Также было описано формирование вставочных дисков между миобластами и КМЦ в культуре [55].

Изучение возможности индукции репарации сердца до формирования в нем рубцовой ткани [51] показало, что через 3 мес после пересадки в поврежденный миокард миобластов из скелетных мышц новорожденных крысят они пролиферируют. На 3-й день начинается формирование многоядерных мышечных трубочек, которые дифференцируются в фенотип зрелых быстрых мышечных волокон. В дальнейшем в новообразованной ткани возникают признаки, свидетельствующие о наличии медленных мышечных волокон. Новообразованная мышца обладала способностью формировать так называемые спутниковые стволовые клетки. Образованные волокна были способны к сокращению при их стимуляции *ex vivo*. Следовательно, быстрые мышечные волокна пересаженных миобластов могут трансформироваться в устойчивые к утомлению медленные мышечные волокна, и новообразованная мышца может соответствовать параметрам работы сердца. Но, поскольку не обладающая автоматизмом скелетная мышца имеет очень короткую продолжительность потенциала действия и короткий рефрактерный период, пересаженные миобласты не могут непосредственно участвовать в сокращении миокарда [51]. Мышечные волокна трансплантированных клеток располагаются главным образом вдоль поперечной оси сердца, точно так же как ориентируются фибробласты и коллагеновые волокна в процессе рубцевания. Основой же слаженной работы сердечной мышцы является ее сложная волоконная геометрия [24].

Было также установлено, что трансплантированные аутологичные кроличьи миобласты дифференцируются в одноядерные миоциты, окруженные рубцовой тканью, предотвращающей прямое взаимодействие их с тканью миокарда реципиента, но при этом миоциты соединяются друг с другом структурами, напоминающими вставочные диски [52].

Выявлено, что неонатальные скелетные миобласты, пересаженные в миокард,

экспрессируют значительные количества маркерных компонентов *f. Adherens* и щелевых контактов (N-кадгерин и коннексин 43, соответственно), но при дифференцировке они утрачивают это свойство. Наличие щелевых контактов дает возможность КМЦ стимулировать пересаженные клетки скелетной мышцы и вызывать сокращения, синхронизированные с сердечным ритмом [55]. Трансплантаты скелетной мышцы формировали многоядерные миоциты без вставочных дисков, экспрессировали изоформы миозина, специфические для скелетной мышцы, не экспрессировали сердечный миозин и протеины сердечных межклеточных контактов, имели сократительные свойства, специфические для скелетных мышц, т. е. не обладали характерными для сердечного фенотипа свойствами. В опытах же *in vitro* факт формирования межклеточных контактов между скелетными миоцитами и КМЦ был доказан. Предполагают, что эти контакты не могут формироваться после трансплантации из-за снижения экспрессии на поверхности пересаженных скелетных миоцитов N-кадгерина и коннексина 43.

По мнению многих авторов, трансплантированные миобласты непосредственно не улучшают насосную функцию сердца, но уменьшают ригидность зрелого рубца, в результате чего и происходит улучшение систолической функции миокарда [56, 53].

Наибольшее распространение к настоящему времени получил метод трансплантации миобластов в зону рубца, проходящий испытания в нескольких европейских клиниках [56]. Общими недостатками всех этих методов, в том числе и трансплантации миобластов, наряду с неизбежной на этом этапе недостаточной изученностью являются сложная процедура трансплантации клеток, риск их отторжения, вероятность развития побочных эффектов, в частности желудочковых аритмий.

Дифференцированные гладкомышечные клетки (ГМК), не обладающие выраженной пролиферативной активностью, хотя и не могут использоваться в качестве замены КМЦ, однако могут позитивно влиять на процесс ремодулирования миокарда. Выделенные из желудка эмбрионов крыс ГМК после трансплантации в зону ИМ способствовали уменьшению размеров рубца, росту кровеносных сосудов в зоне рубца, а также ограничению дилатации левого желудочка. Об улучшении функции сердца свидетельствовало увеличение систолического и диастолического давления в камере левого желудочка в сравнении с контролем [58]. Очевидно,

трансплантированные ГМК не могут улучшать активное сокращение миокарда. Наблюдаемое улучшение систолической функции миокарда авторы объясняют усилением ангиогенеза, в результате которого может улучшаться региональная перфузия левого желудочка, а изменения диастолической функции — увеличением толщины стенки левого желудочка, ограничивающей желудочковую дилатацию.

Клеточная терапия ИМ с помощью стволовых клеток

Физиологическая регенерация тканей взрослого организма и их репарация в случае повреждения осуществляются при непосредственном участии популяции низкокодифференцированных клеток-предшественников — стволовых клеток (СК). Основным свойством СК является способность к самообновлению и дифференцировке в клеточные компоненты различных тканей. В большом количестве СК содержатся в красном костном мозге взрослых млекопитающих и человека. Условно СК делят на гемопоэтические (производящие клеточные элементы крови) и мезенхимальные (или стромальные), способные трансформироваться в высококодифференцированные органоспецифические клетки, такие как адипоциты, хондроциты, теноциты, гепатоциты, миоциты, эндотелиальные клетки [59] и, что принципиально важно, в КМЦ [47].

Открытие способности СК костного мозга замещать поврежденные участки костной, хрящевой и жировой ткани позволило предположить, что эти клетки могут быть использованы для замещения погибших КМЦ, ГМК и фибробластов в очаге ишемии миокарда [60]. Принципиальная возможность такого замещения была показана Orlic и соавт. в опытах на сердце мышей [61]. При этом популяция СК костного мозга была введена в зону, окружавшую очаг ишемии, и установлено их превращение в КМЦ. Подобное исследование было выполнено также на крысах, которым СК вводили непосредственно в коронарные артерии [60].

Самые примитивные среди СК — эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), способные развиваться в любой вид ткани, т. е. являются тотипотентными [62, 63]. ЭСК также могут служить источником донорских КМЦ. На основе ЭСК генетической модификацией создана линия, у которой преобладает кардиомиогенный путь дифференцировки [63]. ЭСК неоднократно пытались использовать

при различных патологических состояниях, но клиническое их применение пока вызывает много споров: опасность заключается в относительно высоком риске малигнизации, развитии иммунных осложнений, высокой вероятности инфицирования. Кроме того, не решены и этические аспекты этого вопроса.

Клинической альтернативой эмбриональных СК могут служить постнатальные или «взрослые» СК, основным местом образования которых является КМ. Показано, что после пересадки в миокард СК КМ могут коммитироваться в КМЦ, эндотелиоциты и ГМК кровеносных сосудов [64, 65, 66]. Трансплантация аутологичных СК КМ для усиления регенерации миокарда после ИМ уже используется в клинике [61, 67].

Клеточная терапия повреждений миокарда с применением моноклеарной фракции костного мозга

Свидетельства костномозгового происхождения КМЦ и клеток сосудов позволяют рассматривать костный мозг как источник материала для клеточной терапии. В красном костном мозге количество СК взрослого организма существенно выше, чем в периферической крови, но все же невелико. Для увеличения содержания СК в аспирате костного мозга применяют методики концентрирования клеточных элементов — получение моноклеарной фракции (МФ) [68].

К настоящему времени проведен ряд исследований с применением МФ костного мозга. Прямые инъекции клеток МФ в зону ишемии миокарда и в артерию, питающую зону повреждения, приводили к улучшению васкуляризации ишемизированного миокарда и частичному восстановлению метаболизма поврежденного миокарда. Эти данные косвенно могут свидетельствовать об активации репаративных процессов в зоне рубца. Прямых доказательств репарации миокарда при использовании МФ не получено [69].

Положительным аспектом применения МФ костного мозга в клинической практике является возможность работать с аутологичным материалом в условиях закрытой системы, при которой не происходит контакт клеточного материала с окружающей средой. К недостаткам МФ относят специфичность материала для каждого пациента — соотношение стволовые /прогениторные клетки сильно варьирует, вследствие чего не существует четких критериев стандартизации МФ. Кроме того, количество костного мозга,

необходимого для приготовления МФ, достаточно велико.

На сегодняшний день, несмотря на недостатки метода, проводятся клинические исследования по применению МФ костного мозга при ИМ [70–74]. Показано, что в присутствии сыворотки пуповинной крови человека клетки могут быть размножены намного эффективнее, чем при использовании коммерчески доступных сывороток животных, в том числе специально отобранных для культивирования МСК человека. В среде с 10%-й сывороткой пуповинной крови клетки сохраняют высокий пролиферативный потенциал и способность к разнонаправленной дифференцировке на протяжении 10–12 пассажей. За это время из образца костного мозга объемом 10–20 мл удается получить до 10^9 – 10^{10} морфологически и функционально гомогенных клеток, что достаточно для большинства существующих клинических протоколов.

У большинства пациентов после применения МФ было отмечено улучшение клинического состояния, гемодинамики, уменьшение размеров левого желудочка, увеличение фракции выброса левого желудочка, отмечена тенденция к уменьшению глубины и площади дефектов перфузии миокарда; эффект сохранялся в течение одного года.

Клеточная терапия ИМ с применением гемопоэтических стволовых клеток (ГСК)

Большинство клеток моноклеарной фракции костного мозга, как известно, составляют ГСК и клетки гемопоэтического ряда. ГСК могут мигрировать из костного мозга в кровотоки и циркулировать в крови [75]. В работе [76] впервые было установлено, что ГСК могут принимать участие в регенерации миокарда. Мышам пересаживали костный мозг с применением клеток (CD34-/low, c-Kit+, Sca1+) и вызывали экспериментальный ИМ. Анализ поврежденного миокарда выявил КМЦ донорского происхождения в перинфарктной зоне.

В работе [5] проводили инъекции ГСК с фенотипом Lin-, c-Kit+ в перинфарктную зону ишемического миокарда. На 9-е сутки после введения клеток в 68% инфарктной зоны выявляли юные КМЦ донорского происхождения. Однако попытки повторить этот эксперимент потерпели неудачу, и осталось неясным, способны ли ГСК трансдифференцироваться в кардиомиоцитарном направлении и участвовать в регенерации миокарда.

Клеточная терапия повреждения миокарда с применением мезенхимальных стволовых клеток (МСК)

Выявление способности МСК дифференцироваться в кардиомиогенном направлении послужило основой для использования их в клеточной терапии ИМ. В экспериментах на животных показано, что МСК костного мозга опосредованно, через высвобождение ростовых фактов индуцируют ангиогенез и миогенез, а также ингибируют апоптоз КМЦ при трансплантации в миокард. В нормальном миокарде недифференцированные МСК могут развиваться в КМЦ и интегрироваться с окружающими клетками.

Кардиомиогенная клеточная линия была получена *in vitro* из клеток стромы КМ мышцей индуцированием процессов их дифференцировки в КМЦ в результате обработки 5-азациитидином [77]. Полученные клетки имели фенотип фетальных желудочковых КМЦ и экспрессировали множество генов, специфических для КМЦ, имели КМЦ-подобную ультраструктуру, были связаны между собой вставочными дисками, формировали мышечные трубочки, спонтанно сокращались. Генерируемые их мышечными трубочками потенциалы действия напоминали таковые у желудочковых КМЦ.

Трансплантация МСК, культивированных в течение 7 дней в среде, содержащей 5-азациитидин, в рубцовую ткань после экспериментального ИМ ограничивала экспансию рубца и желудочковую дилатацию, в ткани происходил неоангиогенез, в пересаженных клетках экспрессировался сердечно-специфический тропонин I. Пересадка приводила к увеличению пикового систолического давления и улучшению сократимости поврежденного миокарда [78, 79].

МСК крыс, трансплантированные в миокард после культивирования, дифференцировались в КМЦ и образовывали щелевые контакты [62].

Трансплантация МСК в поврежденный миокард сопровождалась существенными изменениями гемодинамических и функциональных показателей сердца. Изменение гемодинамических показателей связывают с продуцированием МСК большого количества факторов ангиогенеза, таких как фактор роста эндотелия сосудов VEGF, фактор фон Виллебранда, тромбоцитарный фактор

роста PDGF, фактор роста фибробластов FGF, ангиопоэтин [2]. Колокализация инъецированных МСК с гладкомышечным слоем кровеносных сосудов косвенно подтверждает их участие в восстановлении перфузии поврежденного миокарда.

Таким образом, наиболее перспективным направлением в поисках эффективных методов лечения ишемических поражений сердца, в частности инфаркта миокарда, в настоящее время большинством исследователей считается клеточная трансплантология. Ее рассматривают как альтернативу не только традиционной консервативной терапии, но и органной трансплантации.

Среди всех типов клеток, применявшихся для лечения ИМ, в том числе и стволовых, МСК отличаются рядом уникальных свойств: могут доставляться к зоне повреждения через кровоток, дифференцироваться в кардиомиоцитарном направлении, являются продуцентами большого количества факторов, увеличивающих жизнеспособность клеточных элементов, в том числе КМЦ, и стимулирующих неоангиогенез. В настоящее время большинство исследователей считают применение МСК одним из наиболее перспективных подходов в клеточной терапии ИМ.

Однако уменьшение степени рубцевания, стимуляция ангиогенеза, предотвращение вторичных волн некроза миокарда и даже частичное восстановление нормальной структуры сердца возможны только при пересадке клеток на ранних стадиях ИМ. Трансплантация клеток в сформировавшийся рубец может способствовать улучшению биомеханики расслабления миокарда, но не будет столь эффективной.

Для своевременного осуществления кардиомиопластики клиницистам необходимо иметь достаточное количество клеток-предшественников КМЦ, особенно в случае ауто-трансплантации. Эту проблему поможет решить создание криобанков стволовых клеток. Поэтому весьма актуальными являются исследования, направленные на разработку эффективных методов криоконсервирования эмбриональных стволовых клеток, аутологических стволовых клеток кордовой крови, мезенхимальных и гемопоэтических клеток костного мозга, а также потенциальных клеток-предшественников другого происхождения [80].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Руководство по кардиологии.* — Т. 3: Болезни сердца / Под ред. Е. И. Чазова. — М.: Медицина, 1982. — 624 с.
2. *Кругляков П. В., Соколова И. Б., Полынцев Д. Г.* Клеточная терапия инфаркта миокарда // *Цитология.* — 2008. — Т. 50, № 6. — С. 521–527.
3. *Малая Л. Т., Власенко М. А., Микляев И. Ю.* Инфаркт миокарда. — М.: Медицина, 1981. — 488 с.
4. *Bittner R. E., Schofer C., Weipoltshammer K. et al.* Recruitment of bone-marrow-derived cells by skeletal and cardiac muscle in adult dystrophic mdx mice // *Anat. Embryol. (Berl.).* — 1999. — V. 199. — P. 391–396.
5. *Orlic D., Kajstura J., Chimenti S. et al.* Mobilized bone marrow cells repair the myocardiad heart, improving function and survival // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — V. 98. — P. 10344–10349.
6. *Fernandes K. J. L., McKenzie I. A., Mill P. et al.* A dermal niche for multipotent adult skin-derived precursor cells // *Nat. Cell. Biol.* — 2004. — N 6. — P. 1082–2010.
7. *Li R. K., Mickle D. A. G., Weisel R. D. et al.* Natural history of fetal rat cardiomyocytes transplanted into adult rat myocardial scar tissue // *Circulation.* — 1997. — V. 96. — P. 179–187.
8. *Koh G. Y., Soonpaa M. H., Klug M. G. et al.* Stable fetal cardiomyocyte grafts in the hearts of dystrophic mice and dogs // *J. Clin. Invest.* — 1995. — V. 96, N 4. — P. 2034–2042.
9. *Leor J., Patterson M., Qumones M. J. et al.* Transplantation of Feta Myocardial Tissue Into the Infarcted Myocardium of Rat. A Potential Method for Repair of Infarcted Myocardium? // *Circulation.* — 1996. — V. 94. — P. 332–336.
10. *Karsner H. T., Saphir O., Todd T. W.* The state of the cardiac muscle in hypertrophy and atrophy // *Amer. J. Pathology.* — 1925. — V. 1. — P. 351–371.
11. *Саркисов Д. С.* Регенерация и ее клиническое значение. — М.: Медицина, 1979. — 284 с.
12. *Morkin E., Ashford T. P.* Myocardial DNA synthesis in experimental cardiac hypertrophy // *Amer. J. Physiology.* — 1968. — V. 215. — P. 1409–1413.
13. *Румянцев П. П.* Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. — Л.: Наука, 1982. — 288 с.
14. *Brookes J. P., Kumar A., Velloso C. P.* Regeneration as an evolutionary variable // *J. Anat.* — 2001. — V. 199. — P. 3–11.
15. *Poss K. D., Wilson L. G., Keating M. T.* Heart regeneration in zebrafish // *Science.* — 2002. — V. 298. — P. 2188–2190.
16. *Leferavich J. M., Bedelbaeva K., Samulewicz S. et al.* Heart regeneration in MRL mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — V. 98. — P. 9830–9835.
17. *Olivetti G., Cigola E., Macstri R. et al.* Aging, cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do to affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart // *J. Mol. Coll. Cardiol.* — 1996. — V. 28. — P. 1463–1477.
18. *Reiss K., Cheng W., Ferber A. et al.* Overexpression of insulin-like growth factor-1 in the heart is coupled with myocyte proliferation in transgenic mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1996. — V. 93, N 16. — P. 8630–8635.
19. *Залесский В. Н., Гавриленко Т. Н.* Апоптоз при ишемии и репродукции миокарда // *Врач. дело.* — 2002. — № 1. — С. 8–15.
20. *Kajstura J., Cheng W., Reiss K. et al.* Apoptotic and necrotic myocyte cell death are independent contributing variables of infarct size in rats // *Lab. Invest.* — 1996. — V. 74. — P. 86–107.
21. *Guerra S., Leri A., Wang X. et al.* Myocyte death in the failing human heart is gender dependent // *Circ. Res.* — 1999. — V. 85, N 9. — P. 856–866.
22. *Beltrami A. P., Urbanek K., Kajstura J. et al.* Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction // *New Engl. J. Med.* — 2001. — V. 344, N 23. — P. 1750–1757.
23. *The biology of cell reproduction* / Ed. R. Baserga. — London: Harvard Univ. Press, 1995. — 452 p.
24. *Бродский В. Я.* Полиплоидия в миокарде: компенсаторный резерв сердца // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* — 1995. — Т. 119. — С. 454–459.
25. *Reiss K., Kaistura J., Zhang X. et al.* Atente myocardial infarction leads to upregulation of the IGF, auto crine system, DNA replication, and nuclear mitotic division in the remaining viable cardiac myocytes // *Exp. Cell Res.* — 1994. — V. 213, N 2. — P. 463–472.
26. *Quaini F., Cigola E., Lagrasta C. et al.* End-stage cardiac failure in humans is coupled with the induction of proliferating *cele* nuclear mitotic diversion in ventricular myocytes // *Circ. Res.* — 1994. — V. 75. — P. 1050–1063.
27. *Anversa P., Kajstura J., Leri A., Bolli R.* Life and death of cardiac stem cells: a paradigm shift in cardiac biology // *Circulation.* — 2006. — V. 113, N 11. — 1451–1463.
28. *Gallo P., Peschle C., Condorelli G.* Sources of cardiomyocytes for stem cell therapy: an update // *Pediatr. Res.* — 2006. — V. 59, N 4. — P. 79–83.
29. *Dawn B., Stein A. B., Urbanek K. et al.* Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate

- infarcted myocardium, and improve cardiac function // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2005. — V. 102, N 10. — P. 3766–3771.
30. *Oh H., Wang S. C., Prahash A. et al.* Telomere attrition and Chk2 activation in human heartfailure // *Ibid.* — 2003. — V. 100. — P. 5378–5383.
 31. *Andree B., Duprez D., Vorbusch B. et al.* BMP-2 induces ectopic expression of cardiac lineage markers and interferes with somite formation in chicken embryos // *Mech. Dev.* — 1998. — V. 70, N 1–2. — P. 119–131.
 32. *Beltrami A. P., Barlucchi L., Torella D. et al.* Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration // *Cell.* — 2003. — V. 114. — P. 763–776.
 33. *Messina E., Angelis L. D., Frati G. et al.* Isolation and Expansion of Adult Cardiac Stem Cells From Human and Murine Heart // *Circ. Res.* — 2004. — V. 95. — P. 911–921.
 34. *Moon R. T., Brawn J. D., Torres M.* WNTs modulate cell fate and behavior during vertebrate development // *Trends. Genet.* — 1998. — V. 13. — P. 157–162.
 35. *Urbanek K., Cesselli D., Rota M. et al.* Stem cell niches in the adult mouse heart // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — V. 103, N 24. — P. 9226–9231.
 36. *Smadja D. M., Bieche I., Uzan G. et al.* PAR-1 activation on human late endothelial progenitor cells enhances angiogenesis in vitro with upregulation of the SDF-1 /CXCR4 system // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* — 2005. — V. 25, N 11. — P. 2321–2327.
 37. *Quaini F., Urbanek K., Beltrami A. P. et al.* Chimerism of the transplanted heart // *N. Engl. J. Med.* — 2002. — V. 346. — P. 5–15.
 38. *Müller A., Pfeiffer P., Koglin J. et al.* Cardiomyocytes of non-cardiac origin in myocardial biopsies of human transplanted hearts // *Circulation.* — 2002. — V. 106. — P. 31–35.
 39. *Репин В. С., Сухих Г. Т.* Медицинская клеточная биология. — М.: ПАМН, 1998. — 200 с.
 40. *Li R. K., Yau T. M., Sakai T. et al.* Cell therapy to repair broken hearts // *Can. J. Cardiol.* — 1998. — V. 14, N 5. — P. 735–744.
 41. *Li R. K., Mickle D. A. G., Weisel R. D. et al.* In Vivo Survival and Function of Transplanted Rat Cardiomyocytes // *Circ. Res.* — 1996. — V. 78, N 2. — P. 283–288.
 42. *Matsushita T., Oyamada M., Kurata H. et al.* Formation of Cell Junctions Between Grafted and Host Cardiomyocytes at the Border Zone of Rat Myocardial Infarction // *Circulation.* — 1999. — V. 100, Suppl II. — P. 262–268.
 43. *Sakai T., Li R. K., Weisel R. D.* Autologous Heart Cell Transplantation Improves Cardiac Function After Myocardial Injury // *Ann. Thorac. Surg.* — 1999. — V. 68. — P. 2074–2081.
 44. *Li R. K., Jia Z. Q., Weisel R. D. et al.* Survival and Function of Bioengineered Cardiac Grafts // *Circulation.* — 1999. — V. 100, suppl. II. — P. 63–69.
 45. *Leor J., Aboulafia-Etzion S., Dar A. et al.* Bioengineered Grafts to Repair the Infarcted Myocardium. A New Approach to Repair the Infarcted Myocardium? // *Ibid.* — 2000. — V. 102, suppl. III. — P. 56–61.
 46. *Reinecke H., Zhang M., Bartosek T. et al.* Survival, Integration and Differentiation of Cardiomyocyte Grafts. A Study in Normal and Injured Rat Hearts // *Ibid.* — 1999. — V. 100. — P. 193–202.
 47. *Беленков Ю. Н., Агеев Ф. Т., Мареев В. Ю., Савченко В. Г.* Мобилизация стволовых клеток костного мозга в лечении больных с сердечной недостаточностью // *Кардиология.* — 2003. — № 3. — С. 7–12.
 48. *Orlic D.* Stem cell repair in ischemic heart disease: an experiment models // *Int. J. Hematol.* — 2002. — V. 76, Suppl I. — P. 144–145.
 49. *Chiu R. C., Zibaitis A., Kao R.* Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation // *Ann. Thorac. Surg.* — 1995. — V. 60. — P. 12–18.
 50. *Koh G. Y., Klug M. G., Soonpaa M. H. et al.* Differentiation and long-term survival of C2C12 myoblast grafts in heart // *J. Clin. Invest.* — 1993. — V. 92, N 3. — P. 1548–1554.
 51. *Murry C. E., Wiseman R. W., Schwartz S. M. et al.* Skeletal Myoblast Transplantation for Repair of Myocardial Necrosis // *J. Clin. Invest.* — 1996. — V. 98. — P. 2512–2523.
 52. *Taylor D. A., Atkins B. Z., Hungspreugs P. et al.* Regenerating functional myocardium: Improved performance after skeletal myoblast transplantation // *Nature Medicine.* — 1998. — N 4. — P. 929–933.
 53. *Matsushita T., Oyamada M., Fujimoto K. et al.* Remodeling of Cell-Cell and Cell-Extracellular Matrix Interactions at the Border Zone of Rat Myocardial Infarcts // *Circ. Res.* — 1999. — V. 85. — P. 1046–1055.
 54. *Yoon P. D., Kao R. L., Magovern G. J.* Myocardial regeneration: transplanting satellite cells into damaged myocardium // *Tex. Heart. Inst. J.* — 1995. — V. 22. — P. 119–125.
 55. *Reinecke H., MacDonald G. H., Hauschka S. D. et al.* Electromechanical Coupling between Skeletal and Cardiac Muscle: Implications for Infarct Repair // *J. Cell. Biol.* — 2000. — V. 149. — P. 731–740.
 56. *Hutcheson K. A., Atkins B. Z., Hopkins M. B. et al.* Comparing Cell Types for Cellular Cardiomyoplasty: Analysis of Improved Diastolic Properties with Autologous Skeletal Myoblasts and Fibroblasts // *Circulation.* — 1999. — V. 100, suppl I. — P. 118.

57. *European Carotid Surgery Trialists Collaborative Group. Randomized Trial of Endarterectomy for recently symptomatic carotid Stenosis: final result of the MRC European Carotid Surgery (ECST) // Lancet. — 1998. — V. 351. — P. 1379–1387.*
58. *Li R. K., Jia Z. Q., Weisel R. D. et al. Smooth Muscle Cell Transplantation into Myocardial Scar Tissue Improves Heart Function // J. Mol. Cell. Cardiol. — 1999. — V. 31. — P. 513–522.*
59. *Pittenger M. F., Mackay A. M., Beck S. C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // Science. — 1999. — V. 284. — P. 143–147.*
60. *Wang J. S., Shum-Tim D., Chedrawy E. et al. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiology and therapeutic implications // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. — 2001. — V. 122. — P. 699–705.*
61. *Orlic D., Kajstura J., Chimenti S. et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium // Nature. — 2001. — V. 410 (6829). — P. 701–705.*
62. *Wang J. S., Shum-Tim D., Galipeau J. et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. — 2000. — V. 120. — P. 999–1006.*
63. *Klug M. G., Soonpaa M. H., Koh G. Y. et al. Genetically Selected Cardiomyocytes from Differentiating Embryonic Stem Cells Form Stable Intracardiac Grafts // J. Clin. Invest. — 1996. — V. 98. — P. 216–224.*
64. *Hughes S. Cardiac stem cells // J. Physiology. — 2002. — V. 197. — P. 468–478.*
65. *Orlic D., Kajstura J. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2001. — V. 98, N 8. — P. 10344–10349.*
66. *Корочкин Л. Н. Стволовые клетки // Онтогенез. — 2003. — Т. 34, № 3. — С. 164–166.*
67. *Assmus B., Schachinger V., Teupe C. et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI) // Circulation. — 2010. — V. 106. — P. 3009–3017.*
68. *Lin G. S., Lu J. J., Jiang X. J., Li G. S. Autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells improved heart function after myocardial infarction // Acta Pharmacol. Sin. — 2004. — V. 25. — P. 876–886.*
69. *Kawamoto A., Tkebuchava T., Yamaguchi J. et al. Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia // Circulation. — 2003. — V. 107. — P. 461–468.*
70. *Cheng F., Zou P., Yang H. et al. Induced differentiation of human cord blood mesenchymal stem/progenitor cells into cardiomyocyte-like cells in vitro // J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci. — 2003. — V. 23, N 2. — P. 154–157.*
71. *Jackson K. A., Majka S. M., Wang H. et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells // J. Clin. Invest. — 2001. — V. 107. — P. 1395–1402.*
72. *Makino S., Fukuda K., Miyoshi S. et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro // J. Clin. Invest. — 1999. — V. 103. — P. 697–705.*
73. *Tomita S., Li R. K., Weisel R. D. et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. // Circulation. — 1999. — V. 100, suppl. II. — P. 247–256.*
74. *Tomita S., Li R. K., Jia Z. Q. et al. Bone Marrow Cells Transplanted in a Cardiac Scar Induced Cardiomyogenesis and Angiogenesis and Improved Damaged Heart Function // Ibid. — 1999. — V. 100, suppl. I. — P. 91–92.*
75. *Грищенко В. И., Прокопюк О. С., Юрченко Т. П. Клеточная терапия: фундаментальные и клинические аспекты // Тез. докл. III Всерос. съезда трансплантол. искусств. орг., 28–30 октября 2005, Москва. — С. 41–42.*
76. *Попов С. В., Рябов В. В., Сулова Т. Е. и др. Фундаментальные и прикладные аспекты клеточных технологий в кардиологии и хирургии // Бюл. СО РАМН. — 2008. — № 4. — С. 5–15.*
77. *Ларионов П. М., Чернявский А. М., Кузнецова И. В. и др. Регенерация кардиомиоцитов периферической зоны миокарда при лазерном тоннелировании и имплантации мононуклеарных клеток костного мозга // Клет. технол. биол. мед. — 2009. — № 4. — С. 201–205.*
78. *Jay H. Traverse, Timothy D. Henry, Douglas E. Vaughan et al. A Phase-II, Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Pilot Trial Evaluating the Safety and Effect of Administration of Bone Marrow Mononuclear Cells 2 to 3 Weeks after Acute Myocardial Infarction // Tex. Heart Inst. J. — 2010. — V. 37, N 4. — P. 412–420.*
79. *Jay H. Traverse, Timothy D. Henry, Douglas E. Vaughan et al. Rationale and Design for TIME: A Phase-II, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Pilot Trial Evaluating the Safety and Effect of Timing of Administration of Bone Marrow Mononuclear Cells after Acute Myocardial Infarction // Am. Heart J. — 2009. — V. 158, N 3. — P. 356–363.*
80. *Kiel M. J., He S., Ashkenazi R. et al. Haematopoietic stem cells do not asymmetrically segregate chromosomes or retain BrdU // Nature. — 2007. — V. 449, N 7159. — P. 238–242.*

КЛІТИННА ТРАНСПЛАНТАЦІЯ В КАРДІОМІОПЛАСТИЦІ ПРИ ІШЕМІЧНОМУ УШКОДЖЕННІ СЕРЦЯ

О. К. Гулевський
І. Й. Щенявський
О. С. Абакумова

Інститут проблем кріобіології
і кріомедицини НАН України,
Харків

E-mail: danalado@rambler.ru

В огляді узагальнено дані про застосування клітинної терапії для репаративної регенерації міокарда після ішемічного ушкодження. Розглядається регенераційний потенціал серцевого м'яза за рахунок власних клітин — попередників кардіоміоцитів, а також перспективи клітинної терапії за допомогою трансплантації ембріональних стовбурових клітин, моноклеарної фракції кісткового мозку, гемопоетичних стовбурових клітин, фетальних і неонатальних кардіоміоцитів, імплантації в ділянку ушкодження м'язових клітин-сателітів та очищених міобластів. Обґрунтовується перспективність створення кріобанків стовбурових клітин, призначених для кардіоміопластики при гострому інфаркті міокарда.

Ключові слова: репаративна регенерація міокарда, інфаркт міокарда, клітинна терапія, стовбурові клітини, кріобанк стовбурових клітин.

CELL TRANSPLANTATION IN THE CARDIOMYOPLASTY OF ISCHEMIC HEART INJURY

A. K. Gulevsky
I. I. Schenyavsky
Ye. S. Abakumova

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

E-mail: danalado@rambler.ru

In the review the data on the use of cellular therapy for reparative regeneration of myocardium after ischemic injury are presented. The regenerative potential of cardiac muscle by means of its own progenitor cells of cardiomyocytes as well as the prospects of cell therapy by transplantation of embryonic stem cells, mononuclear fraction of bone marrow hematopoietic stem cells, fetal and neonatal cardiomyocytes and by implantation into the region of damaged muscle cells and purified myoblasts satellites are summarized. Availability of creating of the stem cells cryobanks for cardiomyoplasty at acute myocardial infarction is proved.

Key words: reparative regeneration of myocardium, myocardial infarction, cell therapy, stem cells, stem cell cryobank.