

## Стентирование и клеточные технологии в лечении реноваскулярной гипертензии атеросклеротического генеза

### Часть 2. Эффективность и безопасность аутологичной трансплантации постнатальных мобилизованных стволовых клеток периферической крови в почечные и позвоночные артерии при ишемической болезни почек длительностью более десяти лет

А.Н. Харламов, Я.Л. Габинский, М.С. Фрейдлина, Э.К. Бос<sup>1</sup>, Т.А. Найданова<sup>2</sup>, С.Д. Чернышев<sup>2</sup>, Б.В. Фадин<sup>2</sup>

Клинико-диагностический центр «Кардиология». Екатеринбург, Россия; <sup>1</sup>Медицинский центр Университета Гронинген. Гронинген, Нидерланды; <sup>2</sup>Центр сердца и сосудов Свердловской областной клинической больницы №1. Екатеринбург, Россия

## Stenting and cell technologies in the treatment of atherosclerotic renovascular hypertension

### Part 2. Effectiveness and safety of postnatal mobilized peripheral blood stem cell auto-transplantation into renal and vertebral arteries in ischemic kidney disease lasting over ten years

A.N. Kharlamov, Ya.L. Gabinsky, M.S. Freydlina, E.K. Bos<sup>1</sup>, T.A. Naydanova<sup>2</sup>, S.D. Chernyshev<sup>2</sup>, B.V. Fadin<sup>2</sup>

Clinical and Diagnostic Center "Cardiology". Yekaterinburg, Russia; <sup>1</sup>Groningen University Medical Center. Groningen, the Netherlands; <sup>2</sup>Cardiovascular Center, Sverdlovsk Region Clinical Hospital No. 1. Yekaterinburg, Russia

---

**Цель.** Оценить эффективность и безопасность аутологичной трансплантации стволовых клеток (ТСК) в почечные и позвоночные артерии у больных реноваскулярной гипертензией (РВГ) длительностью > 10 лет.

**Материал и методы.** 78 пациентов были рандомизированы в основную (ОГ, n=26) и плацебо группы (ГП, n=52). Первичная конечная точка: уровень систолического артериального давления (САД). Вторичные конечные точки: частота рестеноза; скорость клубочковой фильтрации (СКФ), эффективный почечный плазмоток (ЭПП); уровень креатинина, микроальбуминурия (МАУ); качество жизни (КЖ); данные биопсии почек и иммуногистохимический анализ; степень кальцификации почечных сосудов; уровень метаболизма головного мозга (ГМ).

**Результаты.** Рестеноз через 12 месяцев выявлен у 17% больных обеих групп, повторная операция реваскуляризации была необходима 8%. В среднем АД в результате стентирования снизилось с 181/107 до 142/93 мм рт.ст., т.е. через 6 недель ни один пациент не достиг целевых цифр АД. После ТСК в обе почечные артерии в ОГ полная нормализация АД достигнута у 61% больных. Результаты динамической нефросцинтиграфии, лабораторные данные подтвердили высокую эффективность ТСК в почечные артерии после возобновления кровотока – нормальные значения достигнуты в среднем в 64-76% случаев. Отмечено, что лишь 23% регенерировавшей почечной ткани происходит от трансплантированных СК (трансдифференциация), остальные – из местных тканей (дедифференциация). Через 50-55 недель у 37-39% больных сохранялась АГ I степени. Через 6-8 недель после ТСК

в обе позвоночные артерии отмечено усиление метаболической активности мозга, а также снижение АД до нормальных цифр – в среднем с 138/90 до 119/69 мм рт.ст.

**Заключение.** СПА играет ключевую роль в профилактике тромбоза почечной артерии и увеличении управляемости РВГ. ТСК в почечные и позвоночные артерии полностью решает проблему гибели нефронов и фиброза почечной ткани, лечения атеросклероза и устранения негативного влияния со стороны ГМ. Оставшиеся проблемы: поражение органов-мишеней и наличие генетического дефекта.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь почек, стволовые клетки, стентирование.

**Aim.** To assess effectiveness and safety of stem cell auto-transplantation (SCT) into renal and vertebral arteries among patients with renovascular hypertension (RVH) lasting over 10 years.

**Material and methods.** Seventy-eight patients were randomized into main (MG, n=26) and placebo groups (PG, n=52). Primary end-point was systolic blood pressure (SBP) level. Secondary end-points included: restenosis incidence; glomerular filtration rate (GFR); effective renal plasma flow (ERPF); creatinine level and microalbuminuria (MAU); quality of life (QoL); renal biopsy and immuno-histochemical assay data; renal vessel calcification; cerebral metabolism level.

**Results.** Restenosis at 12 months was observed in 17% of both MG and CG patients; repeated revascularization was needed in 8%. Stenting resulted in average BP decrease from 181/107 to 142/93 mm Hg; after 6 weeks, no patient achieved target BP levels. After SCT into both renal arteries, BP normalization was achieved in 61% of MG participants.

Only 23% of regenerated renal tissue originated from transplanted SC (trans-differentiation), the rest originated from local tissues (de-differentiation). After 50-55 weeks, in 37-39% of the patients Stage I AH was observed. At 6-8 weeks after SCT into both vertebral arteries, cerebral metabolism increased, and BP normalized, reducing from 138/90 to 119/69 mm Hg.

**Conclusion.** SCT plays an important role in renal artery thrombosis prevention and RVH control. Renal and vertebral artery SCT solves the problems of nephron destruction and renal tissue fibrosis, atherosclerosis treatment and harmful cerebral influences. Remaining problems include target organ damage and genetic defects.

**Key words:** Ischemic kidney disease, stem cells, stenting.

Реноваскулярная гипертензия (РВГ), продолжительностью > 10 лет отличается злокачественностью течения, резистентностью к медикаментозной терапии и к стентированию почечных артерий (СПА) [8,25]. По данным литературы, это можно связать с прогрессирующими необратимыми изменениями почечной ткани (гибель нефронов и фиброз с последующим истощением простагландин-синтезирующих клеток) и поражением других “звеньев патогенеза” АГ, включая головной мозг (ГМ) [7,10,11,14,19,21,23,24,37]. ГМ рассматривается как одно из основных звеньев (индукционное, регуляторное и закрепляющее влияние) патогенеза АГ с одной стороны, и, с другой, как орган-мишень, органические изменения в котором способствуют дальнейшему развитию и закреплению АГ [7,14,19,32].

Наиболее перспективными и эффективными методами являются СПА и трансплантация стволовых клеток (ТСК) [1–8,9,11,17–19,22,31,33,34,39,41]. Однако следует отметить, что в научной литературе приведены результаты немногочисленных, клинических, пилотных и экспериментальных исследований клеточных технологий в нефрологии [17,28,29,35,36,40,42]. В этих исследованиях показано, что уже через 17–24 недели (нед.) после ТСК костного мозга (КМ) происходит регенерация до 25 % объема погибших почечных нефронов, что

клинически проявляется увеличением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и снижением уровня креатинина [20,26,29,40,42]. Полное анатомо-функциональное восстановление почечной ткани происходит на 50–55 нед. после ТСК КМ [20,26,30,40]. Подобные исследования имеются и в неврологии [24,27,32,38]. Многочисленные эксперименты на животных показывают, что трансплантированные СК КМ, включая гемопоэтические и мезенхимальные, способны дифференцироваться во все типы клеток микро- и макроглии, а также в более высокоорганизованные нейроны [24,32]. Причем полная функциональная интеграция наблюдается уже через 24–26 нед. после ТСК [24,32].

Цель исследования – выяснить эффективность и безопасность СПА и аутологичной ТСК в ПА и позвоночные артерии у больных РВГ длительностью > 10 лет.

## Материал и методы

Исследование является рандомизированным, плацебо-контролируемым и двойным слепым. В исследование рандомизированы 78 человек: основная группа (ОГ) – ТСК (n=26), плацебо группа (ПГ) – трансплантация плацебо – изотонический раствор NaCl (n=52). В Екатеринбурге был включен 41 пациент, из них 12 ОГ была выполнена ТСК на базе Медицинского центра Университета Гронинген (Гронинген, Нидерланды). На базе Университета Гронинген рандомизированы

37 пациентов, причем ТСК проводилась 14 больным. Подробности дизайна исследования изложены в I части публикации.

**Первичная конечная точка:** уровень систолического артериального давления (САД) – велись дневники гипертоника; использовалась классификация АГ по JNC 7.

**Вторичные конечные точки:** частота рестеноза по данным ультразвукового исследования (УЗИ), динамической нефросцинтиграфии, изменения клинической картины; СКФ, эффективный почечный плазмоток (ЭПП) по данным динамической нефросцинтиграфии; уровень креатинина, микроальбуминурия (МАУ); качество жизни (КЖ) по опроснику SF-36; данные биопсии почек и иммуногистохимический анализ; степень кальцификации почечных сосудов (внутрисосудистый УЗ); уровень метаболизма ГМ по данным позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с меченой водой.

СПА проводили всем пациентам сразу после рандомизации (через 1–3 дня). ТСК в ПА выполняли только в основной группе в Нидерландах через 1 месяц (мес.) после рандомизации. ТСК в позвоночные артерии – только в ОГ, в Нидерландах (n=20) через 12 мес. Контрольные исследования проводились во время рандомизации, через 1, 6, 12 и 18 мес. Протокол исследования представлен в первой части публикации.

Целевым АД считали АД < 139/89 мм рт.ст.; идеальным признавали уровень АД < 119/79 мм рт.ст.

Закрытую биопсию почек выполняли по методике Kark R 1954 [10], модифицированной под контролем секторального УЗ сканирования в реальном масштабе времени. Использовалась автоматическая биопсийная игла. Для профилактики осложнений больные лежали в течение 3 часов после пункции на пузыре со льдом с сохранением в течение 2 сут. строгого постельного режима. Назначали гемостатические средства.

Иммуногистохимический анализ осуществляли по стандартной методике [22], включая иммунофлуоресценцию. Используются маркеры (компания Chemicon) плюрипотентных СК (CD9 [MRP-1], podocalyxin/ PCX [эпителий/ эндотелий], ост-4 [POU5F1], SSEA-1, SSEA-3, SSEA-4, TRA-1–85/ blood group antigen, TRA-2–49/ liver-bone-kidney alkaline phosphatase, TRA-2–54/ liver-bone-kidney alkaline phosphatase), дифференцирующихся плюрипотентных СК эктодермы (ASH1 [MASH1], CNPase), дифференцирующихся плюрипотентных СК эндодермы (рах-4, PDX-1 [IDX-1, IPF-1, STF-1, IUF-1, GSF], vimentin), дифференцирующихся плюрипотентных СК мезодермы (CD34 class I, II, III [гемопоэтические клетки, клетки-предшественники эндотелия, клеток крови, гранулоцитов костномозгового происхождения, эмбриональные фибробласты]), дифференцирующегося тубулярного эпителия (renal cell carcinoma), гематопоэтических СК (BCRP1, CD34, CD38, CD59 [protectin], MDR1 [клетки сторонней популяции КМ]), хоуминга и адгезии гематопоэтических СК (C-X-C Chemokine receptor 4 [CXCR4, CD184], stromal cell-derived factor-1 $\alpha$  [SDF1 $\alpha$ ]), эндотелиальных клеток-предшественников (PECAM-1 [CD31]), мезенхимальных СК (CD45RO [LCA], CD10 [CALLA], CD34, VCAM1 [CD106], VEGF receptor-2 [FLK-1, KDR] и трансплантированных СК (bromodeoxyuridine [BrdU], green fluorescent protein [GFP, eGFP], nuclei).

### Получение, обработка, культивирование и ТСК

Основные принципы выбора метода получения и ТСК в настоящем исследовании: минимальная травматичность метода, минимальные сроки госпитализации/ возможность амбулаторного наблюдения, экономичность, максимальная безопасность, соответствие международным нормам этики и прав человека, высокая степень потентности (плюри, тотипотентности) трансплантируемых СК, минимальный онкориск (тератокарцинома, др. опухоли).

1 этап – мобилизация СК КМ цитокинами (в т.ч. стимуляция регенерации на организменном уровне) по стандартной методике [27]: 5-дневный курс ежедневно, подкожно (п/к) – ленограстим 67,2 млн МЕ (526 мкг; 2 мл) независимо от массы тела (МТ) – гранулоцит-колониестимулирующий фактор; 5-дневный курс ежедневно, п/к – алдеслейкин 18 млн МЕ независимо от МТ – интерлейкин-2. Контроль эффективности – высокий лейкоцитоз (>30). Причина выбора вышеуказанных препаратов: Г-КСФ и ИЛ-2, являются цитокинами, которые регулируют дифференцировку и пролиферацию СК CD34+CD38+. Ожидаемые побочные эффекты: головная боль, боль в костях, боль в пояснице, астения, боли в животе, фарингит, ларингит, гриппоподобный синдром, снижение/ повышение АД, синусовая тахикардия, боль в области сердца, повышение уровней креатинина и мочевины, гематурия, одышка, кашель, гипоксия, носовые кровотечения, тошнота, рвота, диарея, анорексия, дисфагия, диспепсия, запор, повышение уровня печеночных ферментов, тревожность, головокружение, эритема, сыпь, зуд, анемия, тромбоцитопения, лейкопения, гипергликемия, гипокальциемия, гиперкалиемия, слабость, головная боль, артралгия, миалгия, асцит, синдром повышенной сосудистой проницаемости.

2 этап – получение СК путем цитафереза периферической крови (ПК) [27,32]. Использовалась аферезная система cobeSpectra фирмы Gambro ВСТ. 2a – автоматически – отделение лейкоцитов и эритроцитов от плазмы с тромбоцитами и накопление мононуклеаров в определенной зоне камеры. Методика большого объема лейкоафереза с обработкой до 4–6 ОЦК = 10–15 л, 2–6 часов. 2b – продавливание мононуклеаров плазмой в сборный контейнер (плазма отсекается от попадания в контейнер).

3 этап – автоматическая флуоресцентно активная сортировка (FACS) [41]. Аппарат Dako Cytoation: MoFlo (молекулярная основа метода – SP клетки имеют повышенную экспрессию АТФ-зависимого канала ABCG2, который выводит краситель Hoechst из клеток). Получен гетерогенный микст СК сторонней популяции (side population) КМ, ПК и других тканевых депо, в т.ч. гематопоэтические СК, мезенхимальные СК, мультипотентные взрослые СК, эндотелиальные клетки-предшественники. Следует учитывать, что при определенном воздействии (повреждении) ткани, СК взрослого могут приобретать характеристики эмбриональных СК и дифференцироваться в ткань любого зародышевого ростка. Данная методика выбрана в связи с тем, что позволяет получить гетерогенный микст клеток с высокой степенью потентности. Наличие указанных выше типов клеток подтверждалось иммуногистохимически по наличию поверхностных маркеров.

4 этап – “терапевтическое” клонирование (метод нуклеотрансфера) [25, 41]. Часть полученных клеток (от

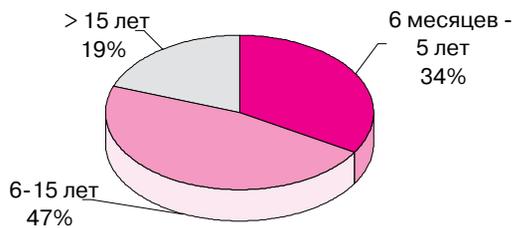
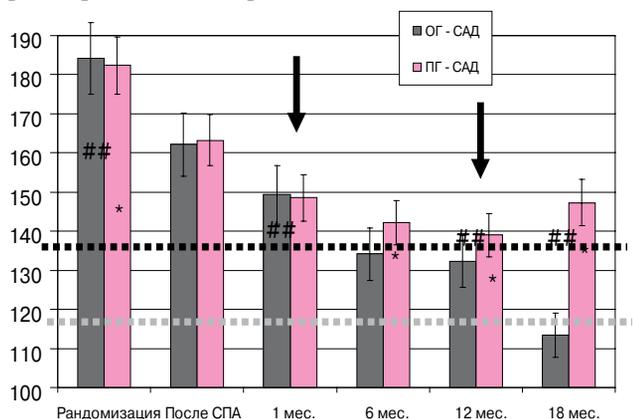


Рис. 1 Продолжительность АГ в исследуемых группах

15 до 50 от каждого пациента) с разными цитологическими характеристиками подвергалась модифицированной методике переноса клеточного ядра. Биологический материал (клетки) из сертифицированных линий эмбриональных СК предоставлен Чикагским институтом репродуктивной генетики (США) – использовался вместо яйцеклеток (как это принято обычно в стандартной методике клонирования). Перед процедурой слияния указанные клетки энуклеировались. Далее осуществлялось слияние полученных клеток с клетками из микста отсортированных СК. Преимущество техники: получение тотипотентных клеток с высокой способностью к репликации, самоподдержанию и дифференцировке без риска тератокарциномы. Основные проблемы: технические и экономические сложности.

5 этап – очистка, обработка, культивирование, криохранение [25]. Бактериологический контроль. Анализ на вирусы – полимеразная цепная реакция (ПЦР). Анализ на проточном цитометре. Методика полностью исключала любую биологическую контаминацию материала. Автоматизированное культивирование – Hamilton: Microlab Star Plus Cell Host. Выделение нуклеиновых кислот, амплификация дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), выявление генетических мутаций – ОНКОконтроль. Криохранение материала.

6 этап – трансплантация путем зондирования артерий (рентгенохирургически). От каждого пациента получено ~ 10 мл суспензии (около 9–11x10<sup>6</sup> клеток) клонированной популяции СК. ТСК осуществлялась интраартериально с использованием катетера по 2–3 инфузии 1–2 мл суспензии через каждые 2–3 минуты в устье обеих ПА и позвоночных артерий, независимо от стороны атеросклеротического поражения.



Примечание: стрелками указаны процедуры ТСК; пунктиром указан уровень целевого и оптимального АД; \* - p<0,01; ## - p<0,05.

Рис. 2 Динамика изменения САД в течение исследования.

**Статистический анализ.** Результаты исследования представлены с учетом среднего отклонения (M±m). Для анализа двух групп использовались t-критерий Стьюдента и u-критерий Манна-Уитни.

## Результаты

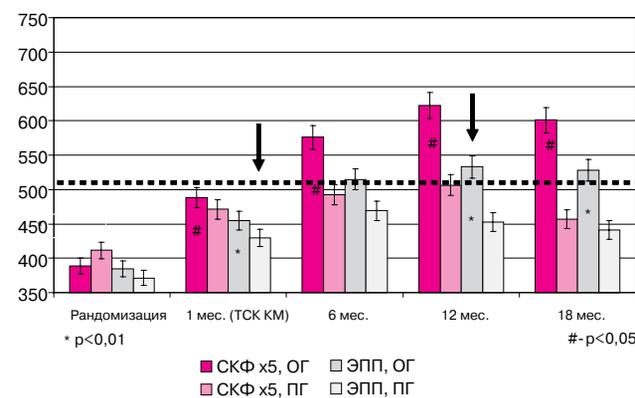
На рисунке 1 представлены данные по распределению пациентов в зависимости от продолжительности АГ.

Были получены следующие результаты СПА. Частота рестеноза через 12 мес. после рандомизации в обеих группах составила 19,23 % (n=15 из n=78). Динамику изменения АД в течение исследования, в т.ч. после СПА можно оценить на рисунке 2. Через 4 нед. целевые уровни АД наблюдались только у 6,7 % больных (p<0,05).

СПА в обеих группах не привело к полной нормализации функции почек (рисунки 3 и 4): снижение уровня креатинина (в среднем на 18,02 %) (рисунок 4а), увеличение СКФ на 20,83 % и ЭПП на 15,77 % (рисунок 3), а также снижение уровня МАУ на 37,33 % (рисунок 4б). Наиболее выраженные достоверные различия между группами отмечаются лишь после ТСК, что подтверждает регенерацию необходимой массы почечных нефронов. Причем у 76,92 % пациентов ОГ через 12 мес. отмечена полная нормализация показателей.

Уже через 1 мес. после рандомизации наблюдалось отчетливое достоверное улучшение показателей КЖ по большинству шкал опросника. Изменения КЖ через 12 и 18 мес. представлены на рисунке 5. Применение данной методики лечения ишемической болезни почек (ИБП) ведет к выраженному достоверному (p<0,05) улучшению физического компонента здоровья, в то время как достоверных различий между ОГ и ПГ при анализе влияния на психологический компонент здоровья выявлено не было.

Через 50–55 нед. у 37–39 % больных сохранялась АГ I ст. Через 6 мес. после ТСК в обе позвоноч-



Примечание: стрелками указаны процедуры ТСК. Пунктиром указан уровень физиологической нормы.

Рис. 3 Изменения функции почек по данным динамической нефросцинтиграфии.

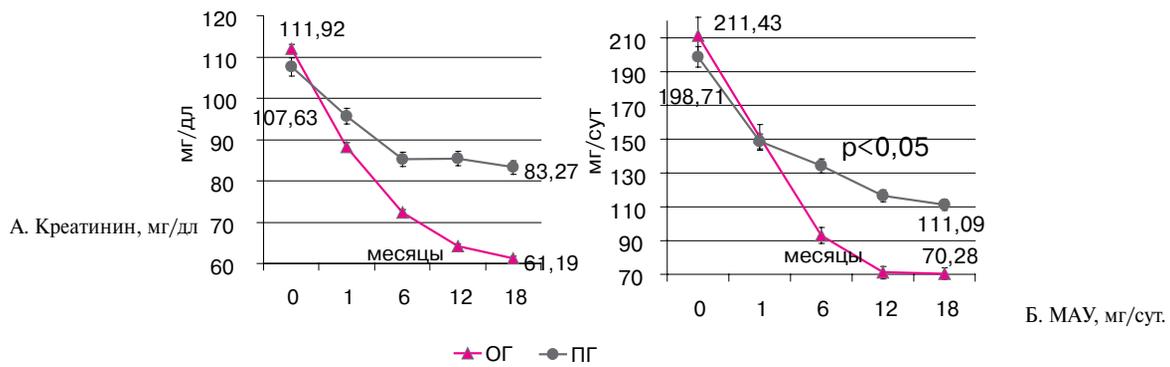


Рис. 4 Изменения функции почек по лабораторным данным.

ные артерии отмечено усиление метаболической активности ГМ по данным ПЭТ с меченой водой (таблица 2), а также снижение АД до нормальных цифр – в среднем с 138/90 до 119/69 мм рт.ст.

При анализе ПЭТ ГМ можно отметить, что до ТСК в позвоночные артерии отмечалась низкая метаболическая активность (конусы ишемии) в области ствола ГМ, особенно в области продолговатого, среднего и промежуточного мозга, т.е. в основных центрах, ответственных за регуляцию АД. После ТСК выявлено значительное (в 1,9 раза,  $p < 0,05$ ) усиление метаболической активности указанных отделов, что, видимо, способствовало нормализации работы этих отделов ГМ, в т.ч. за счет устранения структурных изменений нервной ткани.

Интраваскулярное УЗИ, подтвердило ускорение темпов созревания и кальцификации (в 4,1 раза,  $p < 0,05$ ) бляшек в ПА после ТСК, что подтверждает их роль в патогенезе атеросклероза, в частности в формировании остеоидной эктопической ткани.

Результаты анализа безопасности ТСК показывают, что случаев “закупоривания” клетками сосудов с развитием эмболии, тромбоза или ишемии почечной ткани не выявлено. Однако обнаружены коллагеновые депозиты и участки фиброза, не связанные с РВГ. Отсутствуют типичные для ТСК осложнения: тошнота и рвота, аллергические

реакции, тромбоэмболические осложнения, резкие перепады АД, гемолиз, геморрагические осложнения, инфекции, острая почечная недостаточность (ОПН), утяжеление хронической почечной недостаточности (ХПН).

Данные иммуногистохимии выявили наличие апоптоза в ишемизированной ткани до вмешательства в объеме до 9 % почечной ткани, что имеет важное значение для функции почек. Отмечено, что лишь 23 % регенерировавшей почечной ткани происходит от трансплантированных СК, остальные – из местных тканей, видимо под стимулирующим влиянием первых. Обнаружена следующая доля участия трансплантированных СК в регенерации почечной ткани: клетки тубулярного эпителия – 6 %, гломерулярные клетки – 9 % (эндотелий – 2,9 %, мезангий – 2,3 %, подоциты – 2,6 %, париетальный эпителий – 0,9 %), интерстициальные клетки – 85 % (рисунок 5).

Особое внимание при анализе биоптатов было уделено тубулярному отделу нефрона, т.к. острый тубулярный некроз является основным осложнением ишемии / реперфузии почек, что может привести к развитию ОПН [4,7]. Иммуногистохимический анализ биоптатов почек показал, что трансплантированные СК мигрируют

Таблица 2

Метаболическая активность ГМ по данным ПЭТ с меченой водой до и после ТСК в позвоночные артерии

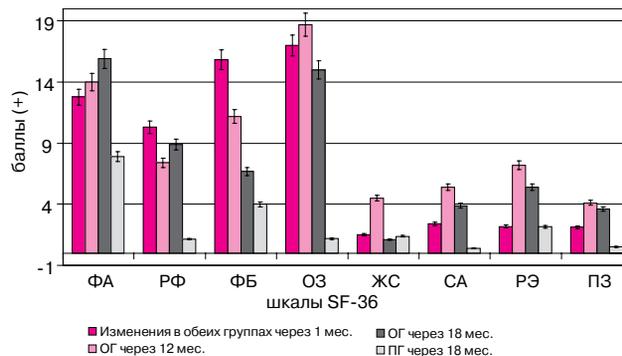
Сегменты головного мозга	12 мес. (исходные показатели в условных баллах, норма – 10–15)	18 мес. (изменения метаболической активности, в %)
Передне-лобный	5	+ 54 %
Средне-лобный	8	+ 67 %
Задне-лобный	6	+ 39 %
Лобно-теменной	6	+ 76 %
Височно-теменной	5	+ 81 %
Височный	4	+ 102 %
Затылочно-теменной	6	+ 104 %
Парасильвиарный	7	+ 93 %
Верхне-стволовой (в т.ч. базальные отделы)	3	+ 197 %
Нижне-стволовой (в т.ч. верхние сегменты спинного мозга)	3	+ 184 %
Среднесегментарные показатели	5,3	+ 99,7 %

в зоны ишемически поврежденных клеток почечных канальцев, клубочков и очагов фиброза, а далее пролиферируют с формированием нормального тубулярного эпителия и клубочков. Следует также обратить внимание на то, что исследование подтвердило потенцирующее протекторное и репарирующее влияние СК на почечный эпителий. Анализ биоптатов показал, что после ишемического повреждения  $19,34 \pm 5,82$  % клеток почечного эпителия погибает через некроз и апоптоз. Около  $26,11 \pm 3,26$  % клеток тубулярного эпителия под воздействием медиаторов СК вступает на путь репарации – вначале происходит дедифференциация и пролиферация этих клеток с дальнейшей редифференциацией. После чего вновь происходит их дифференциация в зрелый тубулярный эпителий. Похожие изменения отмечаются в клубочках и интерстиции, при этом процессы репарации в этих зонах значительно менее активные (в процесс репарации вовлекается всего  $\sim 18,46 \pm 1,29$  % клеток). Следует также указать на то, что в интерстиции при репарации выявляются “местные” малодифференцированные клетки, подобные СК. Их доля в ткани почек достигает  $1,12 \pm 0,84$  %. По-видимому, эти клетки представляют собой репаративный потенциал почек. Кроме того, в зоне клубочков и интерстиция были обнаружены коллагеновые депозиты и очаги фиброобразования, которые занимали  $\sim 9,53 \pm 6,12$  % массы почечной ткани. Их появление напрямую связано с процедурой ТСК. Доказательством этого служат отличные картины при биопсии до и после ТСК.

Региональная (местная, эндогенная) СК почечной ткани не выявлена (нет специфических маркеров), однако, существует масса фактов, указывающих на возможность ее существования. Обнаружены химерные (“консервированные”, не функционирующие, малодифференцированные) клетки (4,2 %), играющие, по-видимому, роль источника и регулятора регенерации при ишемии. Трансплантированные и местные СК не формируют мезенхимальных островков (“ниш”). Роль “ниш”, по всей видимости, выполняют окружающие зрелые интерстиций и эпителий. Количество диплоидных гигантоклеточных клеток-гибридов среди трансплантированных составило 3,2 % – играют роль клеток-регуляторов (“нянок”). Клиническое значение большинства вышеозначенных клеток не ясно.

### Обсуждение

АГ продолжительностью > 5 лет выявлена у 80–90 % больных, а, по литературным данным, для таких пациентов характерны необратимые изменения в почках, т. е. 90 % больных практически по абсолютным показателям необходима ТСК (рисунок 1). В пользу выраженных изменений почечной ткани также свидетельствуют данные таблицы,



Примечание: ФА – физическая активность, РФ – ролевое функционирование, ФБ – физическая боль, ОЗ – общее здоровье, ЖС – жизненные силы, СА – социальная активность, РЭ – ролевая эмоциональность, ПЗ – психическое здоровье.  
Рис. 5. Динамика изменений КЖ (опросник SF-36).

указывающие на то, что II ст. АГ диагностирована в среднем у 87 % больных.

При анализе результатов СПА низкую частоту рестеноза (практически в 2 раза меньше по сравнению со стандартными показателями клиники) можно было бы связать с использованием медикаментозной терапии. Определенный вклад в профилактику рестеноза могла внести ТСК, особенно с учетом гипотезы участия СК в патогенезе атеросклероза, описанной выше.

Согласно данным динамики АД на протяжении исследования, СПА является малоэффективным методом лечения РВГ, что, несомненно, связано с наличием необратимых изменений в почечной ткани с учетом восстановления кровотока, а также “включения” других звеньев патогенеза. Следует также обратить внимание на то, что статистические различия между группами становятся достоверными после ТСК в ПА и далее в позвоночные артерии. Данный эффект можно было бы связать с регенерацией почечной ткани, в т.ч. юктагломерулярного аппарата, т.е. восстановлением депрессорной системы почек, нормализацией выработки ренина и проста-



Рис. 6. Происхождение регенерированной почечной ткани при ИБП в эксперименте у мышей (Lin F. et al., 2005)/ в настоящем исследовании после ТСК КМ

гландинов, а также восстановлением органической и в дальнейшем функциональной структуры ГМ.

При анализе изменений лабораторных и инструментальных параметров следует отметить, что само по себе СПА не привело к полной нормализации указанных показателей. Наиболее выраженные достоверные различия между группами отмечаются лишь после ТСК в ПА, что подтверждает регенерацию необходимой массы почечных нефронов. Причем у 77 % пациентов ОГ отмечена полная нормализация показателей.

Можно сформулировать следующие пути реализации концепции регенерации поврежденной почечной ткани методом ТСК. Существуют три основные точки приложения: стимуляция неоангиогенеза, стимуляция дифференцировки в специализированные клетки и повышение продукции факторов роста и цитокинов. Последнее оказывает влияние на тканевое микроокружение и в итоге на дифференцировку в специализированные клетки, а также оказывает дополнительную регуляцию роста и регенерации собственных специализированных клеток органа. Вышеуказанные механизмы приводят к увеличению количества тканеспецифических клеток *de novo* и, в итоге, к восстановлению поврежденного органа. Полученные данные полностью подтвердили 4 основных направления регенерации с участием СК (Lin F., 2005): множественные унипотентные линии СК (обычно – регионарные), взрослые соматические мультипотентные СК (регионарные, сторонняя популяция КМ и другие тканевые), трансдифференциация СК (клетки из другого зародышевого листка или другого типа), дедифференциация зрелых клеток с последующей пролиферацией и редифференциацией.

Среди преимуществ использования СК выше описанным методом, можно выделить следующие: высокая потентность клеток, способность к самообновлению, самоподдержанию, нет этических проблем, адекватная активность экспансии, высокая тканевая совместимость и аутологичность (не требуется иммуносупрессивная терапия). К недостаткам сегодня можно отнести сложность получения, несовершенство законодательства и необходимость использования специфических идентифицирующих маркеров.

Удалось подтвердить гипотезу [15,16] об участии СК в патогенезе атеросклероза, согласно данным внутрисосудистого УЗИ атеросклеротических бляшек ПА.

Удалось также подтвердить схему регенерации почечной ткани, предложенную Lin F, et al., 2005 [12,13,26,29,40,42]. Речь идет о том, что СК КМ участвуют в физиологической репарации поврежденных почечных тканей путем проникновения из кровеносного русла, непосредственно дифференцируясь в специализированные клетки ткани, а также стимулируя местную регенерацию. Кроме того, СК КМ ответственны за механизмы дедифференциации и пролиферации с последующей регенерацией почек. Существует также вероятный механизм влияния СК КМ на стимуляцию местных (эндогенных, регионарных) СК почек.

Формулируя общую концепцию патогенеза РВГ, можно сделать вывод о том, что основным звеном следует считать истощение депрессорных систем, а главным фактором дальнейшей прогрессии и закрепления АГ следует рассматривать изменения ГМ. Единственным адекватным методом лечения данной патологии является ТСК с целью регенерации как основных структур почек, так и других звеньев патогенеза АГ (включая центральную нервную систему, баро- и волюмо-рецепторы, надпочечники и другие).

Полученные результаты ТСК в позвоночные артерии свидетельствует о высокой эффективности данного метода для лечения и/или коррекции АГ. В частности, структурное и функциональное восстановление ГМ приводит к излечению пациента от РВГ с учетом коррекции на уровне ПА и почек. Следует обязательно помнить о наличии генетического дефекта, поддерживающего определенный уровень АД и стимулирующего развитие АГ.

## Заключение

СПА – малоэффективный метод лечения РВГ длительностью > 10 лет. Высокая частота рестеноза и низкая эффективность влияния на уровень АД диктует необходимость поиска новых методов лечения РВГ, направленных на регенерацию в первую очередь почечной ткани. ТСК служит наиболее эффективным и перспективным методом лечения ИБП при условии возобновления кровотока. Использованный метод полностью решает проблему гибели нефронов, фиброза почечной ткани, структурно-функционального восстановления ГМ при длительности АГ > 10 лет. Основная проблема указанного метода – высокая стоимость, низкая технологическая и экономическая доступность.

## Литература

1. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. и др. Мобилизация стволовых клеток костного мозга в лечении больных хронической сердечной недостаточностью. Кардиология 2003; 3: 12–6.
2. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. и др. Стволовые клетки и их применение для регенерации миокарда. Ж серд недостат 2003; 4: 168–73.
3. Владимирская Е.Б., Майорова О.А., Румянцев С.А. и др. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками. Москва “Медпрактика-М” 2005; 392 с.
4. Вермель А.Е. Стволовые клетки: общая характеристика и перспективы применения в клинической практике. Клин мед 2004; 1: 5–11.
5. Габбасов З.А., Соболева Э.Л. Стромальные стволовые клетки взрослого организма – резерв восстановительной хирургии. Клин геронт 2003; 5: 20–4.
6. Дыбан А.П. Стволовые клетки в экспериментальной и клинической медицине. Мед академ ж 2002; 3: 3–24.
7. Кобалава Ж.Д., Гудков К.М. Эволюция представлений о стресс-индуцированной артериальной гипертензии и применение антагонистов рецепторов ангиотензина II. Кардиоваск тер профил 2002; 2: 4–15.
8. Козлов К.Л. Интервенционная пластика венечных артерий. Санкт-Петербург “ЭЛБИ” 2000; 230 с.
9. Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. Москва “ООО Мед информ агентство” 2003; 544 с.
10. Нефрология. Руководство для врачей. Под ред. И.Е. Тареевой. Москва “Медицина” 2000; 688 с.
11. Патофизиология заболеваний сердечно-сосудистой системы. Под ред. Л. Лилли; Пер. с англ. Москва “БИНОМ. Лаборатория знаний” 2003; 598 с.
12. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. Москва “МИА” 2003; 912 с.
13. Саркисов Д.С. Регенерация и ее клиническое значение. Москва “Медицина” 1979; 284 с.
14. Скворцова В.И. Артериальная гипертензия и церебро-васкулярные нарушения. Сист гиперт 2005; 2: 9–12.
15. Титов В.Н. Клиническая биохимия и кардинальные вопросы патогенеза атеросклероза (обзор литературы). Клин лаб диагн 2000; 1: 3–9.
16. Титов В.Н. Патогенез атеросклероза для XXI века (обзор литературы). Клин лаб диагн 1998; 3–11.
17. Шахов В.П., Байков А.Н. Стволовые клетки. Реальность и перспективы. Современные аспекты биологии и медицины. Томск “СГУ” 2002; 110–2.
18. Шахов В.П., Попов С.В. Стволовые клетки и кардиомиогенез в норме и патологии. Томск “СТТ” 2004; 170 с.
19. Шулуто Б.И. Артериальная гипертензия 2000. Санкт-Петербург “РЕНКОР” 2001; 382 с.
20. Al-Awqati Q, and Oliver JA. Stem cells in the kidney. Kidney int 2002; 61: 387–95.
21. Ashish Bhalla, Sanjay D’Cruz, Lehl SS, et al. Renovascular hypertension – its evaluation and management. JIACM 2003; 4: 139–46.
22. Bianco P, Robey P. Mesenchymal Stem Cell: clinical applications J Clin Invest 2000; 105: 1663–8.
23. Chade AR, Rodriguez-Porcel M, Grande JP, et al. Mechanisms of renal structural alterations in combined hypercholesterolemia and renal artery stenosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23: 1295–301.
24. Cogle CR, Yachnis AT, Laywell ED, et al. Bone marrow transdifferentiation in brain after transplantation: a retrospective study. Lancet 2004; 363(9419): 1432–7.
25. Essentials of stem cell biology / Edited by Robert Lanza. Elsevier Academic Press, US 2006; 312 p.
26. Lin F, Cordes K, Li L, et al. Hematopoietic stem cells contribute to the regeneration of renal tubules after renal ischemia-reperfusion injury in mice. J Am Soc Nephrol 2003; 14: 1188–99.
27. Haas S, Weidner N, Winkler J. Adult stem cell therapy in stroke. Curr Opin Neurol 2005; 18(1): 59–64.
28. Halme DG, Kessler DA. FDA regulation of stem-cell-based therapies. NEJM 2006; 355: 1730–5.
29. Duffield JS, Park KM, Hsiao Li-Li, et al. Restoration of tubular epithelial cells during repair of the postischemic kidney occurs independently of bone marrow-derived stem cells. J Clin Invest 2005; 115: 1743–55.
30. Kuure S, Vuolteenaho R, Vainio S. Kidney morphogenesis: cellular and molecular regulation. Mech Dev 2000; 92: 31–45.
31. Lewis RA. Stem cell legacy: Leroy Stevens; The Scientist, A Stem Cell Legacy. The Scientist 2000; 14: 19–24.
32. Mezey E, Key S, Vögelsang G, et al. Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(3): 1364–9.
33. Okie S. Stem-cell politics. NEJM 2006; 355: 1633–5.
34. Okie S. Single-cell storm. NEJM 2006; 355: 1636–7.
35. Oliver JA, Barasch J, Yang J, et al. Metanephric mesenchyme contains embryonic renal stem cells. Am J Physiol Renal Physiol 2002; 283: 799–809.
36. Qiao J, Cohen D, Herzlinger D. The metanephric blastema differentiates into collecting system and nephron epithelia in vitro. Development 1995; 121: 3207–14.
37. Safian RD, Textor SC. Renal-artery stenosis. N Engl J Med 2001; 6: 431–42.
38. Savitz SI, Dinsmore JH, Wechsler LR, et al. Cell Therapy for Stroke. Neurorx 2004; 1(4): 406–14.
39. Schwartz RS. The politics and promise of stem-cell research. NEJM 2006; 12: 1189–91.
40. Stark K, Vainio S, Vassileva G, et al. Epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney regulated by Wnt-4. Nature 1994; 372: 679–83.
41. Stem cells and the future of regenerative medicine. National Research Council. Institute of medicine. National Academy Press, Washington, DC, US. 2002, 47 p.
42. Kale S, Karihaloo A, Clark PR, et al. Bone marrow stem cells contribute to repair of the ischemically injured renal tubule. J Clin Invest 2003; 112: 42–9.

Поступила 01/02–2007