

Возможности использования стволовых клеток для лечения больных ишемической болезнью сердца. Часть I

Н.С. Жукова*, И.И. Староверов

ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Росздрава. Москва, Россия

Stem cells in the treatment of patients with coronary heart disease. Part I

N.S. Zhukova*, I.I. Staroverov

Russian Cardiology Scientific and Clinical Complex. Moscow, Russia

Сердечная недостаточность (СН) является одной из главных причин смерти больных, перенесших инфаркт миокарда (ИМ). Современные методы реперфузионной терапии острого ИМ, такие как тромболитическая терапия, хирургическая и баллонная реваскуляризация, несмотря на своевременное проведение, в ряде случаев не предупреждают образования обширных зон повреждения миокарда и развития СН [3-6]. Поэтому поиски исследователей были направлены на создание методов, позволяющих улучшить функциональное состояние поврежденных участков миокарда. В этой связи безусловный интерес вызывает клеточная терапия, целью которой служит восстановление функциональной способности сердца. В данном обзоре освещены результаты экспериментальных и клинических исследований в области клеточной терапии ишемической болезни сердца, представлена характеристика различных типов стволовых клеток, применяемых для клеточной кардиомиопластики. Обсуждены способы трансплантации клеток в миокард, потенциальные побочные действия этого способа лечения.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, стволовые клетки.

Heart failure (HF) is one of the leading death causes in patients with myocardial infarction (MI). The modern methods of reperfusion MI therapy, such as thrombolysis, surgery and balloon revascularization, even when performed early, could fail to prevent the development of large myocardial damage zones, followed by HF. Therefore, the researches have been searching for the methods which improve functional status of damaged myocardium. This review is focused on stem cell therapy, a method aimed at cardiac function restoration. The results of experimental and clinical studies on stem cell therapy in coronary heart disease are presented. Various types of stem cells, used for cellular cardiomyoplasty, are characterised. The methods of cell transplantation into myocardium and potential adverse effects of stem cell therapy are discussed.

Key words: Myocardial infarction, ischemic cardiomyopathy, stem cells.

Стволовые клетки (СК) — популяция примитивных клеток, обладающих способностью к самообновлению и мультилинейной дифференцировке. СК недифференцированы и не способны выполнять специфические функции. СК существуют в большинстве органов, где они составляют незначительную популяцию, обычно 1-2 % от общего числа клеток. Классификация СК основывается на наличии клеточных маркеров и до конца не определена. Наиболее существенные различия имеются между эмбриональными (ЭСК) и региональными или взрослыми СК (РСК).

Эмбриональные стволовые клетки. ЭСК человека плюрипотентны (способны дифференцироваться во все ткани организма) и обладают высоким пролиферативным потенциалом. Получают ЭСК из внутренней клеточной массы донорских эмбрионов на стадии ранней бластоцисты [9]. Ярко выраженная способность ЭСК к диффе-

ренцировке в различные типы соматических клеток *in vitro* и возможность осуществления ген-индуцированной направленной дифференцировки обусловили тот факт, что ЭСК являются привлекательным и многообещающим объектом исследований в современных клеточной биологии и медицине [10, 11]. ЭСК могут служить источником как собственно кардиомиоцитов (КМЦ), так и клеток-проводителей ритма и клеток Пуркинье, причем все они обладают специфическими ионными каналами и структурными белками для обеспечения электрофизиологической функции сердца [12]. Эти возможности ЭСК могут быть использованы в целях кардиомиопластики.

Основные опасения, связанные с применением ЭСК в клинике, вызывает возможность формирования тератом, что наблюдалось в экспериментальных исследованиях [13]. Это может быть связано с отсутствием факторов-индукторов кардиогенеза в сердце взрослого организма

© Коллектив авторов, 2011
e-mail: nataliajukova@rambler.ru
Тел.: (916) 515 6602; (495) 414 6692

[Жукова Н.С. (*контактное лицо) — ст.н.с. отдела неотложной кардиологии, Староверов И.И. — вед.н.с. отдела].

[14]. Однако проведение ген-индуцированной селекции позволяет устранить условия для появления в культуре онкогенных клонов клеток.

Трансплантация ЭСК является аллогенной и требует проведения иммуносупрессивной терапии. Возможно, развитие новых технологий позволит в будущем производить неограниченное количество гистосовместимых ЭСК методом клонирования с использованием ЭСК и нативных КМЦ [15].

Между тем, морально-этическая сторона вопроса, отсутствие удовлетворительного законодательного решения проблем клонирования ЭСК человека в терапевтических целях, как в России, так и во многих других странах мира не позволяют изучать клиническую эффективность применения ЭСК, препятствует оценке предложенных способов защиты реципиентов от переноса при трансплантации онкогенных клонов клеток. В результате ЭСК пока остаются объектом лабораторных и экспериментальных исследований [16].

Региональные или взрослые СК. РСК — являются наиболее зрелым типом СК, которые обнаруживаются во многих тканях и органах сформировавшегося плода и взрослого организма. РСК имеют ограниченную способность к дифференцировке по сравнению с ЭСК и считаются мультипотентными. Происхождение РСК, а также свойства этих клеток остаются пока недостаточно исследованными и поэтому представления о них несколько отличаются у разных авторов. Морфологически РСК трудно идентифицировать, однако эти клетки экспрессируют специфические маркеры, которые позволяют выявлять их в тканях.

Возрастное снижение пула РСК в органах, их сниженная теломеразная активность, проявление мультипотентных свойств лишь в специально созданных условиях микроокружения, а также трудности выявления четких различий между РСК и клетками-предшественниками (КП), которые являются частично дифференцированными клетками, позволяет предполагать, что РСК в органах не истинные СК, а являются коммитированными КП, т. е. детерминированными в определенном направлении развития.

РСК, в частности аутологичные СК костного мозга (КМ), в отличие от ЭСК, уже применяются в клинике. Активное использование РСК для целей регенерационной медицины оказалось возможным благодаря отсутствию правовых ограничений на их применение, доступности получения, онкологической безопасности и иммунологической совместимости этих клеток, т. к. донорами РСК обычно являются сами реципиенты (больные).

Основной источник получения РСК — КМ. Костномозговые СК включают несколько клеточных популяций с различными морфологическими и фенотипическими характеристиками.

Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) и КП не имеют специфических морфологических признаков и могут быть идентифицированы только путем определения их функциональной активности или с помощью иммунофенотипического анализа поверхностных маркеров. Определение функциональной активности ГСК требует значительного времени. Поэтому в клинических лабораториях наиболее приемлем иммунофенотипический анализ. Идентификация специфических поверхностных маркеров ГСК с использованием антител против клеточно-поверхностных антигенов основывается пре-

имущественно на определении кластера дифференцировки CD34. Эта молекула является маркером как наиболее примитивных СК, так и более дифференцированных КП, однако отсутствует на зрелых клетках крови. На клеточной мембране наиболее примитивных КП, которые могут быть идентифицированы, присутствует CD34, но отсутствует множество антигенов, которые появляются только на более дифференцированных клетках определенной линии. Поэтому они иногда обозначаются как клетки CD34+Lin- (не несущие линейных маркеров). В отличие от них, линейно-специфические КП можно идентифицировать благодаря тому, что они экспрессируют антиген CD34 в сочетании с линейным маркером. Также маркерами ГСК и КП являются антигены CD133 и CD117 [17].

Большинство ГСК находится в КМ. В нормальных условиях только 1-3 % клеток КМ имеют маркер CD34. Гемопоэтические КП циркулируют и в периферической крови, тоже в очень небольшом количестве (в среднем 0,5-5,0 клеток CD34 на мл).

ГСК являются одними из наиболее доступных клеток для проведения кардиомиопластики. Они могут быть получены непосредственно из КМ или из периферической крови, обычно после стимуляции с помощью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ).

Способность ГСК положительно влиять на процессы ремоделирования левого желудочка (ЛЖ), улучшать перфузию миокарда была продемонстрирована в экспериментальных и клинических исследованиях [3, 18-21]. Для трансплантации пациентам используют фракции CD 34+ (20) или CD133+ [21].

В большинстве работ последних лет с помощью молекулярно-генетического метода — RT PCR, позволяющего по специфичности дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) выявлять клеточноспецифические поверхностные маркерные белки, метода FACS (fluorescence-activated cells sorter), цитогенетического метода FISH (fluorescence in situ hybridisation), было установлено, что ГСК КМ участвуют в процессах регенерации не за счет их дифференцировки в КМЦ, а преимущественно путем их слияния (химеризации) с клетками поврежденного органа [22,23]. Наряду с этим возможными объяснениями улучшения сердечной функции после трансплантации ГСК могут быть неоваскуляризация, выделение цитокинов и хемокинов, снижающих воспаление в поврежденной области и участвующих в привлечении других КП, восстановление внеклеточного матрикса, вовлечение эндогенных СК сердца [24].

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) — малочисленная популяция клеток стромы КМ, негативная к маркерам ГСК (CD34 и 133). Также МСК находятся в мышцах, коже, жировой ткани и обладают потенциалом дифференцироваться в любую ткань мезенхимального происхождения [25, 26].

Способность дифференцировки МСК в миоциты и сосудистые структуры была показана в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [27-31]. Под воздействием 5-азациитидина МСК приобретают спонтанную сократительную активность и при введении в очаг ишемии способны предотвращать некротические изменения в ишемизированном миокарде и улучшать его сократительную функцию.

Проблема заключается в том, что МСК составляют очень незначительную часть клеток КМ, поэтому необходимо использовать методики фенотипического выделе-

ния и наращивания клеток *in vitro*, чтобы получить достаточные количества МСК для их реального клинического применения. Поэтому в большинстве клинических исследований для введения пациентам с инфарктом миокарда (ИМ) используются препараты КМ, содержащие и МСК, и ГСК, и эндотелиальные прогениторные клетки [5,7]. В результате сложно соотнести положительный эффект таких трансплантаций с воздействием какого-то определенного типа СК. В то же время, имеются свидетельства по улучшению сердечных функций при введении чистых культур МСК [36,37]. Изменение гемодинамических показателей поврежденного миокарда связывают с продукцией МСК факторов ангиогенеза. Введение МСК в поврежденный миокард экспериментальных животных приводило к усилению эндогенной продукции фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [39]. Удалось показать, что имплантированные МСК экспрессируют факторы Фон Виллебранта и VEGF, стимулирующие ангиогенез [38]. МСК секретируют большое количество других факторов ангиогенеза, в числе которых тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF), ангиопоэтин [94].

МСК считаются чрезвычайно перспективным объектом клеточной терапии, и на их всестороннее изучение направлена значительная часть клинических и экспериментальных исследований, что обусловлено рядом обстоятельств. Во-первых, из всех соматических СК именно МСК демонстрируют в экспериментах потенции к дифференцировке в клетки всех трех зародышевых листков: энтодермы, мезодермы и эктодермы [95]. Во-вторых, поверхностные антигены МСК характеризуются очень низкой иммуногенностью [32,33]. Имеются свидетельства иммуномодуляторных эффектов МСК на организм реципиента [34]. Благодаря этим свойствам пересадка даже аллогенных клеток приводит к высокой степени включения их в ткани реципиента и длительному сохранению в них [34,35]. Также МСК продуцируют большое количество факторов, увеличивающих жизнеспособность клеточных элементов, в т.ч. и КМЦ, и стимулирующих неоангиогенез. Наконец, МСК могут быть получены не только из КМ, но и из жировой ткани или пуповинной крови, а также плаценты, сосудов, тимуса, амниотической жидкости. В большинстве случаев эти способы получения МСК не столь эффективны, как выделение из КМ, однако такие клетки обладают всеми фенотипическими характеристиками МСК и мультипотентностью. Исходя из сходства фенотипа и дифференцировочного потенциала МСК из различных источников (список которых с каждым годом все пополняется) можно предполагать, что все эти клетки потенциально могут использоваться в регенеративной терапии кардиологических заболеваний, что, однако, требует отдельных углубленных исследований.

Эндотелиальные клетки-предшественники. Большая часть эндотелиальных КП (ЭКП) находится в КМ. Также их можно получить из мезенхимальных СК и эндогенных СК сердца [40]. ЭКП можно выделять из мононуклеарной фракции периферической крови с помощью магнитной сепарации, увеличивать количество за счет культивирования, а затем трансплантировать. Трудностями данного подхода являются, прежде всего, ограниченная репликационная способность ЭКП и снижение способности клеток к хоумингу после культивирования [41].

ЭКП экспрессируют поверхностные маркеры истинного эндотелия (рецептор-2 к VEGF), ГСК (CD34 и CD133)

и факторы транскрипции, идентифицирующие их как КП [42-45].

Особый интерес вызывают ЭКП в плане терапевтического ангиогенеза. Эти клетки могут дифференцироваться в эндотелиальные клетки и КМЦ *in vitro*, а при введении в зону ИМ у экспериментальных животных стимулируют неоваскуляризацию и инкорпорируются в сосуды [46-49].

В настоящее время имеется клинический опыт использования ЭКП. В исследовании после внутривенного введения ЭКП больным ОИМ клетки мигрировали в очаг повреждения в течение 48 ч. Через 14 сут. отмечалось значимое увеличение количества капилляров в зоне ИМ и перинфарктной зоне, уменьшение коллагеновых отложений и апоптоза КМЦ, а также улучшение сердечной функции [2]. Полученные данные позволяют предположить, что процесс неоваскуляризации, индуцированный клетками, может предотвращать апоптоз и ремоделирование ЛЖ и вести к регенерации КМЦ [50].

В другом исследовании внутрикоронарное введение ЭКП, мобилизованных Г-КСФ, больным с хронической ИБС сопровождалось улучшением коронарного резерва и уменьшением размеров очага повреждения [51].

Возникает вопрос, почему ЭКП, если они способны к миграции, стимуляции неоваскуляризации и дифференцировке в КМЦ, не могут полностью обеспечить восстановление поврежденного миокарда в постинфарктный период? Показано, что у людей, страдающих ССЗ, способность ЭКП к трансдифференцировке значительно снижена. У пожилых больных, страдающих диабетом (СД), отмечено ухудшение функциональной способности ЭКП [52]. Экспрессия фактора VEGF, который играет основную роль в привлечении ЭКП в область поражения, обычно усиливается под влиянием гипоксии. По неизвестным причинам у некоторых людей такая регуляция не работает [53].

Известно, что терапия статинами при коронарной недостаточности приводит не только к уменьшению содержания провоспалительных цитокинов: интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухоли β (TNF- β), но и значительно увеличивает количество ЭКП в периферической крови [54]. Возможно, применение статинов позволит расширить использование ЭКП в клинике.

Однако в клинических работах, наряду с положительным влиянием на функциональное состояние и перфузию миокарда, была отмечена высокая частота рестенозов в стентах и нарастания тяжести атеросклероза при введении фракции клеток КМ, обогащенной CD 133+ — клетками в стентированную артерию, ответственную за развитие ИМ [55]. Учитывая, что ЭКП могут участвовать в репарации поврежденного эндотелия и в ангиоаскулогенезе, эти эффекты могут быть обусловлены избыточной репаративной реакцией и стимуляцией неоваскуляризации стенки поврежденного сосуда при введении в него ЭКП. В то же время внутримиокардиальное введение ЭКП во время аортокоронарного шунтирования (АКШ) в рандомизированном исследовании не вызывало подобных осложнений и приводило к более выраженному увеличению фракции выброса (ФВ) в группе клеточной терапии, особенно у больных с исходно низкими ее величинами (< 35 %) [56].

Вопрос о том, что эффективнее может стимулировать ангиогенез — изолированная популяция ЭКП, смешанная популяция мононуклеарных или мезенхимальных

клеток КМ, пока не имеет ответа. Учитывая, что сосуд формируется несколькими типами клеток, можно предположить, что смешанная популяция, содержащая предшественники эндотелиальных и гладкомышечных клеток, может оказаться более эффективной. Однако это предположение нуждается в подтверждении.

Скелетные миобласты (сателлитные клетки взрослого организма) являются предшественниками миоцитов поперечно-полосатой мускулатуры и располагаются под базальной мембраной мышечного волокна. Аутогенные скелетные миобласты могут быть получены с помощью биопсии поперечно-полосатых мышц пациента [57]. Являясь СК, они способны пролиферировать и дифференцироваться в зрелые скелетные миоциты, обеспечивая определенную степень регенерации этой ткани [58]. Возможность аутологичного выделения миобластов из организма донора и культивирования их *in vitro* снимает этические вопросы использования миобластов в терапии повреждений миокарда [71]. Преимуществом данного метода является также устойчивость миобластов к гипоксии [60].

При трансплантации в зону ишемии наблюдается приживание миобластов. Сохраняющиеся миобласты формируют многоядерные миофибриллы по типу скелетной мускулатуры [61]. Выявить общие щелевые контакты донорских миоцитов и миоцитов реципиента к настоящему времени не удалось [62, 68]. Щелевые контакты являются основным типом взаимодействия КМЦ в миокарде. Основными структурными белками щелевых контактов в миокарде являются коннексин-43 и N-кадгерин. Интересно, что скелетные миобласты сами по себе обладают определенным уровнем экспрессии коннексина-43 и N-кадгерина [59], однако после прекращения деления и дифференцировки миобластов в мышечные трубочки, эти белки исчезают. Таким образом, дифференцировавшись, скелетный миобласт может терять функциональную связь с клетками миокарда [61, 62]. А именно за счет щелевых контактов миоциты образуют единую электрически сопряженную сеть в отделах сердца, любое нарушение в которой приводит к возникновению аритмий вплоть до фибрилляции.

Достаточно часто возникавшие эпизоды желудочковой тахикардии (ЖТ) после трансплантации скелетных миобластов [65,66,69,70] не позволяют широко рекомендовать этот метод для клинического использования. Имплантация кардиовертеров-дефибрилляторов (ИКД) сегодня проводится рутинно всем больным в исследованиях с использованием скелетных миобластов [65].

Является ли нарушение ритма ответом сердечной ткани на трансплантацию клеток или это связано с интеграцией трансплантата и нативных КМЦ, дифференциацией клеток-сателлитов или с их гибелью, неизвестно [71]. Для предотвращения аритмогенного эффекта после трансплантации клеток-сателлитов в настоящее время разрабатывают подход, основанный на генетической модификации клеток-сателлитов с целью экспрессии в них коннексина-43 [72].

Тем не менее, данные экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют не только о способности скелетных миобластов приживаться в миокарде, но и улучшать глобальную сократительную функцию сердца [57,63-66].

Гистологическое подтверждение хорошей приживаемости аутологичных скелетных миобластов представлено

в работе американских кардиохирургов [64]. Больным с ишемической кардиомиопатией (ИКМП), находящимся в листе ожидания на трансплантацию сердца, предварительно пересаживали скелетные миобласты в ходе операции по имплантации устройства поддержки ЛЖ. Через 2, 3, 4 и 6 мес. (в 3 случаях после операции трансплантации и в 1 — после смерти до операции) “старые сердца” подверглись исследованию. Было показано, что пересаженные клетки выжили и дифференцировались в мышечные волокна. В области прижившихся клеток у одного пациента наблюдалось формирование новых кровеносных сосудов.

В другом исследовании применялся игольчатый катетер для доставки скелетных миобластов 5 больным с симптомами недостаточности кровообращения (НК) после перенесенного переднего ИМ [66]. Электромеханическое картирование позволило выделить зоны жизнеспособного миокарда, в которые вводили СК. Через 3 мес. отмечено увеличение ФВ по сравнению с исходными показателями от 36 % до 41 % и до 45 % через 6 мес. Также отмечалось утолщение мышечной стенки в зоне перенесенного ИМ.

Имеются предположения, что трансплантация миобластов повышает эластичность постинфарктного рубца [67], улучшает систолическую и диастолическую функции поврежденного миокарда [68]. Очевидным является то, что имплантированные миобласты непосредственно не участвуют в систоле в силу отсутствия необходимых электромеханических характеристик и межклеточных контактов с КМЦ.

Эндогенные СК сердца. Отсутствие способности КМЦ взрослых млекопитающих к самообновлению до недавнего времени являлось общепризнанным фактом. КМЦ не пролиферируют, замещение дефекта сердечной мышцы происходит без их участия, в основном за счет пролиферации клеток стромы (фибробластов) [73]. Взрослое сердце млекопитающих рассматривалось как орган, построенный преимущественно из КМЦ, находящихся в постмитотическом состоянии и не имеющих эндогенной популяции СК.

Однако в последнее время появились работы, посвященные исследованию КП во взрослом сердце человека [74-81]. В одной из работ [81] показано присутствие в миокарде СК, которые обеспечивают его регенерацию после ИМ. В сердцах пациентов, умерших в результате ОИМ, после трансплантации сердца или ИКМП, было зафиксировано, что до 28 % миоцитов находятся в стадии пролиферации, экспрессируя маркер пролиферативной активности Ki-67. Наличие на поверхности клеток маркеров c-kit, MDR-1, Sca-1 указывало на то, что они являлись СК. Количество СК сердца (СКС), коммитированных в КМЦ, гладкомышечные клетки и эндотелий возрастало в 85 раз в случае ОИМ, в 25 раз — при ИКМП. Однако количество апоптотических СКС также увеличивалось [82]. Эти параметры значительно сокращали количество функционально компетентных СКС. Потеря функционально значимых СКС при ИКМП может лежать в основе прогрессирования заболевания.

Очевидно, что регенерация миокарда требует образования не только КМЦ, но и коронарных сосудов. Восстановление пула КМЦ не может привести к улучшению сократительной функции сердца без усиления трофики, как и образование только сосудов не “оживит” погибшие КМЦ. Главным результатом этой работы яви-

лось то, что было показано присутствие в ткани взрослого сердца незрелой популяции клеток, способных к делению и дифференцировке в КМЦ, ГМК, эндотелий. Их активация происходит преимущественно при ишемических состояниях, как ответ на гипоксию ткани. Эти клетки не экспрессируют маркеров дифференцированных клеток [83], способны к самообновлению и полипотентны. Их можно выделить из ткани сердца и размножить в культуре [84,85]. Трансплантация c-kit-положительных СКС в область ИМ сопровождается их приживлением и пролиферацией и ведет к улучшению функции сердца [86].

При трансплантации меченых эндогенных СКС мышам с индуцированной ишемией было выявлено, что эти клетки заселяют края поврежденной области и дифференцируются в КМЦ [87].

Вопрос о происхождении этой популяции клеток остается открытым. В источниках литературы называют два возможных варианта попадания таких клеток в миокард. Во-первых, это могут быть клетки, сохранившиеся со времени эмбриогенеза и не прошедшие все стадии дифференцировки [88,89]. Другая гипотеза предполагает миграцию СКС в миокард взрослых млекопитающих

из КМ в процессе воспаления при участии специфических медиаторов. Такие клетки впоследствии приживаются в миокарде и могут способствовать его регенерации, дифференцируясь в КМЦ, эндотелий, ГМК или сливаясь с КМЦ. Предположительно, в этих процессах могут активно участвовать лиганд-рецепторные оси типа SDF-1/CXCR-4 [90].

Выявление собственного депо СК в сердце открывает новую возможность регенерации поврежденного миокарда за счет его репопуляции вновь образованными КМЦ и сосудистыми структурами [81,91]. Использование СКС может оказаться эффективнее применения других клеточных типов — эти клетки аутогенны, исходно расположены в сердце и связаны с КМЦ и эндотелием сосудов сердца по происхождению и локализации. Ограничением к их использованию можно считать сложность получения из биопсийного материала в силу крайней немногочисленности. Существует мнение, что эффект от введения клеток различного фенотипа, использующихся в предварительных клинических экспериментах, может быть обусловлен именно активацией резидентных СКС [92,93].

Литература

- Fuchs S, Baffour R, Zhou Y, et al. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *JACC* 2001; 37: 1726-32.
- Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001; 7: 430-6.
- Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001; 107: 1395-402.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
- Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106: 3009-17.
- Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913-8.
- Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* 2003; 108: 2212-8.
- Fernandez-Aviles F, San Roman JA, Garcia-Frade J, et al. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res* 2004; 95: 742-8.
- Dvash T, Benvenisty N. Human embryonic stem cells as a model for early human development. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 929-40.
- Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных тканей и клеток: настоящее и будущее. *Бюлл экспер биол мед* 1998; 126 (приложение 1): 3-13.
- Потапов И.В., Крашенинников М.Е., Онищенко Н.А. Клеточная кардиомиопластика (аналитический обзор). *Вест трансплантол искус органов* 2001; 2: 53-62.
- Goldenthal MJ, Marin-Garcia J. Stem cells and cardiac disorders: an appraisal. *Cardiovasc Res* 2003; 58: 369-77.
- Odorico YS, Kanfman DS, Thomson YA. *Stem Cells* 2001; 19: 193-204.
- Foley A, Mercola M. Heart induction: embryology to cardiomyocyte regeneration. *Trends Cardiovasc Med* 2004; 14: 121-5.
- Torella D, Ellison GM, Nadal-Ginard B, et al. Cardiac stem and progenitor cell biology for regenerative medicine. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15: 229-36.
- Lee MS, Makkar RR. Stem-cell transplantation in myocardial infarction: a status report. *Ann Intern Med* 2004; 140(9): 729-37.
- Bhatia M. Ac 133 expression in human stem cells. *Leukemia* 2001; 15: 1685-8.
- Suzuki K, Murtuza B, Smolenski RT, et al. Cell transplantation for the treatment of acute myocardial infarction using vascular endothelial growth factor-expressing skeletal myoblasts. *Circulation* 2001; 104(12 Suppl 1): I207-12.
- Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001; 104: 1046-52.
- Schachinger V, Assmus B, Britten MB, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction. Final one-year results of the TOPCARE-AMI trial. *JACC* 2004; 44(B): 1690-9.
- Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone marrow transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45-6.
- Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004; 428: 664-8.
- Balsam L, Wagers A, Christensen J, et al. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004; 428: 668-73.
- Keating A. Bone marrow cells for cardiac repair. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 2-6.
- Kan I, Melamed E, Offen E. Integral therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells. *Curr Drug Targ* 2005; 6: 31-41.

26. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9: 641-50.
27. Fukuda K, Fujita J. Mesenchymal, but not hematopoietic, stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardia infarction in mice. *Kidney Int* 2005; 68: 1940-3.
28. Min J-Y, Sullivan MF, Yang Y, et al. Significant improvement of heart function by cotransplantation of human mesenchymal stem cells and fetal cardiomyocytes in postinfarcted pigs. *Ann Thorac Surg* 2002; 74: 1568-75.
29. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner W, et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 1919-26.
30. Toma C, Pittenger MF, Cahill K, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002; 105: 93-8.
31. Gojo S, Gojo N, Takeda Y, et al. In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2003; 288: 51-9.
32. Zimmet J, Hare J. Emerging role for bone marrow derived mesenchymal stem cells in myocardial regenerative therapy. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 471-81.
33. Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, Mahon BP. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *J Inflamm (Lond)* 2005; 2: 8.
34. Krampera M, Glennie S, Dyson J, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood* 2003; 101: 3722-9.
35. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 2004; 95: 9-20.
36. Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, et al. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardia infarction. *Nat Med* 2006; 12: 459-65.
37. Zhang S, Jia Z, Ge J, et al. Purified human bone marrow multipotent mesenchymal stem cells regenerate infarcted myocardium in experimental ts. *Cell Transplant* 2005; 14: 787-98.
38. Liu J, Hu Q, Wang Z, Xu C, et al. Autologous stem cell transplantation for myocardial repair. *Am J Physiol Hear Circ Physiol* 2004; 287: H501-11.
39. Tang YL, Zhao Q, Zhang YC, et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium. *Regul Pept* 2004; 117: 3-10.
40. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: functional characterization. *Trends Cardiovasc MED* 2004; 14(8): 318-22.
41. Rupp S, Badorff C, Koyanagi M, et al. Statin therapy in patients with coronary artery disease improves the endothelial progenitor cell differentiation into cardiomyogenic cells. *Basic Res Cardiol* 2004; 99: 61-8.
42. Vittet D, Prandini MH, Berthier R, et al. Embryonic stem cells differentiate in vitro to endothelial cells through successive maturation steps. *Blood* 1996; 88: 3424-31.
43. Eichmann A, Corbel C, Nataf V, et al. Ligand-dependent development of the endothelial and hemopoietic lineages from embryonic mesodermal cells expressing vascular endothelial growth factor receptor 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5141-6.
44. Suri C, Jones PF, Patan S, et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell* 1996; 87: 1171-80.
45. Yla-Herttuala S, Rissanen T, Vajanto I. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical application in cardiovascular medicine. *JACC* 2007; 49: 1015-26.
46. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res* 2004; 95: 343-53.
47. Smadja D, Cornet A, Emmerich J, et al. Endothelial progenitor cells: characterization, in vitro expansion, and prospects for autologous cell therapy. *Cell Biol Toxicol* 2007; 23(4): 223-9.
48. Dong C, Goldschmidt-Clermont P. Endothelial progenitor cells: a promising therapeutic alternative for cardiovascular disease. *J Interv Cardiol* 2007; 20(2):93-9.
49. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res* 2004; 95: 343-53.
50. Schuster MD, Kocher AA, Seki T, et al. Myocardial neovascularization by bone marrow angioblasts results in cardiomyocyte regeneration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H525-32.
51. Erb S, Linke A, Adams V, Lenk K, et al. Transplantation of blood-derived progenitor cells after recanalization of chronic coronary artery occlusion: first randomized and placebo-controlled study. *Circ Res* 2005; 97: 756-62.
52. Hristov M, Erl V, Weber P. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1185-9.
53. Cao Y, Hong A, Schulten H, et al. Update on therapeutic neovascularization. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 639-48.
54. Sola S, Mir M, Rajagopalan S, et al. Statin therapy is associated with improved cardiovascular outcomes and levels of inflammatory markers in patients with heart failure. *J Card Fail* 2005; 11(8): 607-13.
55. Bartunec J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, et al. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction. *Circulation* 2005; 112 (suppl. I): 178-83.
56. Stamm C, Kleine H, Choy Y, et al. Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 133: 717-25.
57. Menasche P, Hagege A, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001; 357: 279-80.
58. Asakura A. Stem cells in adult skeletal muscle. *Trends Cardiovasc Med* 2003; 13: 123-8.
59. Kessler PD, Byrne BJ. Myoblast cell grafting into heart muscle: cellular biology and potential application. *Ann Rev Physiol* 1999; 61: 219-42.
60. Field L. Future therapy for cardiovascular disease. *NHLBI Workshop Cell Transplantation: Future Therapy for Cardiovascular Disease*. Columbia 1998. MD. 32 p.
61. Reinecke H, MacDonald GH, Hauschka SD, Murry CE. Electromechanical coupling between skeletal and cardiac muscle. Implications for infarct repair. *J Cell Biol* 2000; 149: 731-40.
62. Leobon B, Garcin I, Menasche P, et al. Myoblasts transplanted into rat infarcted myocardium are functionally isolated from their host. *Proc Nat Acad Sci USA* 2003; 100: 7808-11.
63. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998; 4: 929-33.
64. Pagani F, Simonyan H, Zawadzka A, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. Histological analysis of cell survival and differentiation. *JACC* 2003; 41(5): 879-88.
65. Menasche P. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *JACC* 2003; 41: 1078-83.
66. Smits P, Van Geuns R, Poldermans D, et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up. *JACC* 2003; 42: 2063.
67. Menasche P. Skeletal myoblast transplantation for cardiac repair. *Exp Rev Cardiovasc Ther* 2004; 2: 21-8.
68. Atkins BZ, Huteheson KA, Hume MT, et al. Reversing Post-MI Dysfunction: Improved Myocardial Performance after

- Autologous Skeletal Myoblast Transfer to Infarcted Rabbit Heart. *Circulation* 1999; 100 (suppl. I): I-838.
69. Dai W, Hale S, Kloner R. Seem cell transplantation for the treatment of myocardial infarction. *Transpl Immunol* 2005: In Press.
 70. Marrar R, Lill M, Chen P, et al. Stem cell therapy for myocardial repair: is it arrhythmogenic? *JACC* 2003; 42: 2070.
 71. Taylor DA. Cell-based myocardial repair: how should we proceed? *Int J Cardiol* 2004; 95 Suppl: 8-12.
 72. Abraham MR, Henrikson CA, Tung L, et al. Antiarrhythmic engineering of skeletal myoblasts for cardiac transplantation. *Circ Res* 2005; 97 (2): 159-67.
 73. Kim WH, Joo CU, Ku JH, et al. Cell cycle regulators during human atrial development. *Korean J Intern Med* 1998; 13(2): 77-82.
 74. Anversa P, Leri A, Kajstura J, et al. Myocyte growth and cardiac repair. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34: 91-105.
 75. Kajstura J, Leri A, Finato N, et al. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8801-5.
 76. Anversa P, Palackal T, Sonnenblick EH, et al. Hypertensive cardiomyopathy: myocyte nuclei hyperplasia in the mammalian rat heart. *J Clin Invest* 1990; 85: 994-7.
 77. Urbanek K, Quaini F, Taska J, et al. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 10440-5.
 78. Beltrami CA, Finato N, Rocco M, et al. Structural basis of end-stage failure in ischemia cardiomyopathy in humans. *Circulation* 1994; 89: 151-63.
 79. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001; 344: 1750-7.
 80. Olivetti G, Cigola E, Maestri R, et al. Aging, cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do not affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 128: 1463-77.
 81. Urbanek K, Quaini F, Bolli R, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *PNAS* 2005; 102(24): 8692-7.
 82. Oh H, Wang SC, Prahash A, et al. Telomere attrition and Chk2 activation in human heart failure. *PNAS* 2003; 100: 5378-83.
 83. Chimenti C, Kajstura J, Torella D, et al. Senescence and death of primitive cells and myocytes lead to premature cardiac aging and heart failure. *Circ Res* 2003; 93: 604-13.
 84. Van Vliet P, Sluijter JP, Dcevendans PA, et al. Isolation and expansion of resident cardiac progenitor cells. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2007; 5: 33-43.
 85. Dawn B, Stein AB, 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; 102: 3766-71.
 86. Bearzi C. Characterization and growth of human cardiac stem cells. Late-breaking developments in stem cell biology and cardiac growth regulation. *Circulation* 2005; 111: 1720.
 87. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TO, et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 12313-8.
 88. Gilbert S. F. *Developmental Biology*. 6th ed, 2000.
 89. Tzahor E, Lassar AB. Wnt signals from the neural tube block ectopic cardiogenesis. *Genes Dev* 2001; 15: 255-60.
 90. Smadja DM, 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 Vasc Biol* 2005; 25(11): 2321-7.
 91. Urbanek K, Cesselli D, Rota M, et al. Stem cell niches in the adult mouse heart. *PNAS* 2006; 103 (24): 9226-31.
 92. Yoon YS, Wecker A, Heyd L, et al. Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. *J Clin Invest* 2005; 115: 326-38.
 93. Behfar A, Zindman LV, Hodgson DM, et al. Stem cell differentiation requires a paracrine pathway in the heart. *FASEB J* 2002; 16: 1558-66.
 94. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation* 2004; 109: 1543-9.
 95. Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair-current views. *Stem Cells* 2007; 25: 2896-902.

Поступила 23/09-2009