

Возможности использования стволовых клеток для лечения больных с ишемической болезнью сердца. Часть II. Мононуклеарная фракция клеток костного мозга

Н.С. Жукова*, И.И. Староверов

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

Stem cells in treating patients with coronary heart disease. Part II. Bone marrow-derived mononuclear cells

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

Russian Cardiology Scientific and Clinical Complex. Moscow, Russia

Клеточная кардиомиопластика — относительно новый подход к восстановлению функции сердца, поврежденного в результате инфаркта миокарда (ИМ). Экспериментальные и первые клинические исследования по трансплантации стволовых клеток (СК) больным острым ИМ и сердечной недостаточностью показали возможность улучшения перфузии и сократимости миокарда за счет ангиогенеза, уменьшения апоптоза кардиомиоцитов (КМЦ) и ремоделирования левого желудочка. Однако, несмотря на многообещающие результаты, остается много препятствий для того, чтобы СК стали использоваться для лечения пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Многие фундаментальные вопросы еще только предстоит выяснить в будущих исследованиях: механизмы хоуминга, дифференцировки и приживления трансплантированных СК, механизмы влияния трансплантированных клеток на сердечную функцию и др. Остается предметом дискуссии наиболее предпочтительный источник СК для трансплантации в клинику, способ доставки клеток в миокард, время проведения кардиомиопластики, количество клеток в трансплантате и способы его подготовки. Во второй части обзора представлена характеристика мононуклеарной фракции клеток костного мозга, которая наиболее широко используется в клинических исследованиях, изучающих влияние этого типа клеток на функциональное состояние поврежденного миокарда. Обсуждены некоторые проблемы и вопросы безопасности клеточной терапии сердца.

Ключевые слова: мононуклеарная фракция клеток костного мозга, инфаркт миокарда, ишемическая кардиомиопатия, стволовые клетки.

Cell cardiomyoplasty is a relatively new approach to restoring cardiac function after myocardial infarction (MI). Experimental and first clinical studies on stem cell (SC) transplantation in patients with acute MI and heart failure have demonstrated the improved myocardial perfusion and myocardial contractility, due to angiogenesis, reduced cardiomyocyte (CMC) apoptosis, and regressed left ventricular remodelling. However, despite these promising results, there are some barriers for a wider use of SC in treating cardiovascular patients. Multiple key aspects are yet to be clarified in future studies, including the mechanisms of transplanted SC homing, differentiation, and engraftment, the mechanisms of transplanted cell effects on cardiac function, etc. Such issues as the preferential source for SC transplantation in clinical settings, the method of cell transport into myocardium, the optimal cardiomyoplasty time, the number of the transplanted cells and the methods for their pre-transplantation processing are still under discussion. The second part of the present review describes the bone-derived mononuclear cells, as the cell fraction which is widely used in the clinical studies on SC and myocardial injury. Some problems and safety aspects of SC therapy in cardiac patients are discussed.

Key words: Bone marrow-derived mononuclear cells, myocardial infarction, ischemic cardiomyopathy, stem cells.

© 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].

Костный мозг (КМ) содержит смешанную популяцию клеток. До сих пор не ясно, какая фракция клеток КМ предпочтительна для введения больным сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ). Одним из привлекающих источников стволовых клеток (СК) для этих целей являются нефракционированные клетки КМ. Под этим подразумеваются все ядродержащие клетки после удаления эритроцитов, тромбоцитов и жировых клеток. В мононуклеарной фракции присутствуют, по меньшей мере, две популяции СК — гемопоэтические и мезенхимальные (ГСК и МСК). Кроме того, мононуклеарные клетки КМ (МККМ) не вызывают иммунологических реакций (аутоклетки), не требуют дорогих и сложных манипуляций или культивирования. В связи с этим за последние годы мононуклеарная фракция КМ стала наиболее широко используемым видом трансплантата в клинических исследованиях [5-7,96-99, 155-156].

Результаты экспериментальных и первых клинических работ были оптимистичными и свидетельствовали о безопасности, хорошей переносимости и эффективности клеточной терапии у больных острым инфарктом миокарда (ОИМ) и ишемической кардиомиопатией (КМП) [1-8]. Однако в последующих слепых, рандомизированных исследованиях результаты были неоднозначными.

В исследованиях REPAIR-AMI (Reperfusion in Acute Infarction, Rotterdam study) [156], ASTAMI (Autologous Stem cell Transplantation in Acute Myocardial Infarction) [97,98], BOOST ((BOne marrOW transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) [96,155] изучали влияние аутологичных клеток КМ (мононуклеарной фракции или фракции, обогащенной CD133⁺-клетками) или мононуклеарных клеток периферической крови на процессы ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) у больных ОИМ. Клетки вводили в предварительно стентированную, ответственную за ИМ коронарную артерию (КА). В исследовании REPAIR-AMI были получены положительные результаты, а в аналогичном по дизайну исследовании ASTAMI — отрицательные.

В исследовании REPAIR-AMI включали больных (n=204) ОИМ независимо от его локализации. Для оценки результата применялась ренгеноконтрастная вентрикулография. Первичной конечной точкой было абсолютное изменение фракции выброса (ФВ) ЛЖ за 4 мес. Через 4 мес. прирост ФВ оказался большим (+5,5 %) в группе (гр.) вмешательства, чем в гр. плацебо (+3 %). При этом максимальное увеличение ФВ наблюдалось у больных с исходно более низким показателем сердечного выброса (СВ), а также у тех пациентов, которым трансплантация выполнялась позже 5 сут. заболевания [95].

В другой работе оценивали эффективность клеточной терапии у больных передним ИМ. На 5-8 сут. заболевания больным (n=52) внутрикороноарно вводились МККМ, 49 пациентов получали традиционную терапию. Функции ЛЖ оценивали исходно и через 6 мес. с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), эхокардиографии (ЭхоКГ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ). Ни один из методов не выявил достоверных различий между гр. по показателям функции ЛЖ. По данным МРТ отмечена тенденция к улучшению ФВ, но в контрольной гр. [97,98].

В исследовании BOOST увеличение ФВ через 6 мес. было достоверно большим в гр., получавших клеточную терапию [155], но через 18 мес. это различие исчезло за счет нарастания ФВ в контрольной гр. Не отмечалось

достоверного уменьшения размеров зоны инфаркта и конечно-диастолического объема (КДО) ЛЖ. Однако скорость восстановления сократительной функции на протяжении всего периода наблюдения оставалась более высокой у пациентов, получавших клеточную терапию. На основании этих данных был сделан вывод, что однократное введение СК не обеспечило длительного положительного влияния на систолическую функцию ЛЖ, однако возможно ускорение восстановления сердечной функции с помощью клеточной терапии. Анализируя полученные результаты, авторы ссылаются на собственную работу [99], в которой показано, что только 5 % от введенных клеток задерживаются в инфарцированном миокарде, и подчеркивают необходимость поиска фармакологических способов увеличения включения СК в миокард.

В исследовании TOPCARE-AMI (Transplantation Of Progenitor Cells And Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction) [5,7] сравнивали клиническую эффективность 2 видов аутологичных клеток — МККМ и эндотелиальных прогениторных клеток, выделенных из периферической крови. Трансплантацию проводили интракороноарно, в среднем через 5 сут. после ОИМ. Через 4 и 12 мес. отмечено увеличение ФВ ЛЖ, уменьшение конечно-систолического объема (КСО). Достоверные отличия по оцениваемым показателям между гр. отсутствовали. Контрольная гр. отсутствовала. Основные выводы, сделанные авторами, — положительное влияние клеточной терапии на процессы ремоделирования, минимум, в течение года и безопасность процедуры. Сходные результаты были получены в аналогичном исследовании группой Strauer [6].

В Томском институте кардиологии проведено рандомизированное исследование (n=44), в котором внутрикороноарно вводили аутологичные МККМ больным ОИМ. Помимо динамики сократительной функции миокарда изучали распределение МККМ методом радионуклидной индикации ^{99m}Tc-НМРАО. Было показано, что клеточная терапия приводит к фиксации клеток в миокарде, не вызывает повреждения миокарда, не провоцирует злокачественные аритмии, снижает уровень интерлейкина (ИЛ)-1 β , фактора некроза опухоли α (ФНО- α), увеличивает содержание инсулиноподобного фактора роста-1 (ИПФР-1), не влияет на глобальную сократительную функцию ЛЖ [151].

Также не было отмечено достоверного улучшения глобальной сократительной функции миокарда в исследовании, изучавшем влияние внутрикороноарного введения мононуклеарной фракции клеток КМ больным ОИМ и сниженной сократительной функцией миокарда. Была отмечена лишь тенденция к улучшению сократительной функции миокарда в динамике у большинства больных. Исследование подтвердило относительную безопасность метода, отсутствие дополнительного повреждения миокарда, появление злокачественных аритмий [152].

Эффективность МККМ оценивалась у пациентов с ишемической КМП [100-103]. В исследовании, проведенном в США и Бразилии [103], применялся игольчатый катетер в качестве способа доставки аутологичных МККМ больным в терминальной стадии хронической сердечной недостаточности (ХСН). Исследование было контролируемым. СК вводили в зоны жизнеспособного миокарда, которые определяли с помощью электромеханического картирования. Через 4 мес. в гр. лечения отмечено увели-

чение ФВ до +9 %, а к концу года до +15 %, улучшение качества жизни больных. Эти данные достаточно убедительны, поскольку клеточная терапия проводилась не в комбинации с процедурами реваскуляризации миокарда, которые могут внести существенный вклад в улучшение показателей сердечной функции.

Положительные результаты получены в открытом исследовании с участием 18 больных, перенесших ИМ 5 мес.-9 лет назад [100]. Через 3 мес. после транскоронарной трансплантации аутологичных МККМ зона ИМ уменьшилась на 30 %, ФВ ЛЖ увеличилась на 15 %. В гр. контроля значимых изменений показателей сердечной функции не наблюдалось.

Внутрикоронарное введение моноклеарной фракции КМ больным с постинфарктной СН в исследовании TOPCARE-CHD (Transplantation of Progenitor Cells and Recovery of LV Function in Patients with Chronic Ischemic Heart Disease) позволило в течение 1,5-летнего наблюдения улучшить функцию ЛЖ, снизить уровень мозгового и предсердного натрийуретических пептидов в крови, а также смертность [104].

В отечественном исследовании [153] оценивались отдаленные клинические результаты лечения 70 больных ишемической КМП, которым интрамиокардиально в процессе аортокоронарного шунтирования (АКШ) вводили аутологичные МККМ (n=40) или фетальные клетки (n=30). У всех больных отмечалось клиническое улучшение, проявляющееся в понижении степени (ст.) СН по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (НЮНА) в первые 3 мес. Однако у 4 больных через 12 мес. были выполнены повторные процедуры введения клеток из-за нарастания клинических признаков СН.

Клинические результаты показали, что методика лечения является безопасной. Однако улучшение показателей внутрисердечной гемодинамики отмечалось только у больных после лечения фетальными клетками. Показатели перфузии миокарда достоверно улучшались, как в гр. с МККМ, так и с фетальными клетками.

В другом исследовании российские ученые также интрамиокардиально в процессе операции АКШ вводили клетки КМ, предварительно культивированные с применением 5-азатидина, больным постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС), низкой сократительной функцией миокарда ЛЖ и поражением коронарных артерий (КА), требующим хирургической реваскуляризации. Не было отмечено периоперационных ИМ, желудочковых аритмий, инфекционных осложнений в раннем послеоперационном периоде. За период наблюдения (в течение 1 года) не выявлено жизнеугрожающих нарушений ритма сердца. ФВ ЛЖ увеличилась с $27,4 \pm 6$ % до $35,1 \pm 8$ % ($p < 0,05$) через 3 мес., и значимый прирост сохранился через 1 год после операции ($40,6 \pm 4$ %) [154].

В 2009г были опубликованы результаты 5-летнего наблюдения за больными, которым в острый период ИМ внутрикоронарно были трансплантированы аутологичные СК КМ — исследования BALANCE (Clinical benefit and long-term outcome after intracoronary autologous bone-marrow cell transplantation in patients with acute myocardial infarction) [134]. Результаты исследования подтвердили безопасность процедуры, а также было показано увеличение ФВ ЛЖ, уменьшение размеров зоны ИМ через 3 и 12 мес. В гр. леченных больных отмечена более низкая смертность и возрастание толерантности к физической нагрузке к 5 году наблюдения. Однако количество

больных, включенных в исследование: 62 больных в основной гр. и столько же больных в контрольной, невелико, необходимо дальнейшее наблюдение для подтверждения положительных результатов [135].

Некоторые проблемы и вопросы безопасности клеточной терапии сердца

Многие фундаментальные вопросы клеточной терапии остаются открытыми: механизмы хоуминга, дифференцировки и приживления трансплантированных СК, роль клеточного слияния и механизмы влияния трансплантированных клеток на сердечную функцию. Остается предметом дискуссии наиболее предпочтительный источник СК для клеточной трансплантации в клинике, способ доставки клеток в миокард, время проведения кардиомиопластики, количество клеток в трансплантате и способы его подготовки.

В литературе пока нет ответа на вопрос, какой же тип СК лучше использовать для более эффективного восстановления функции миокарда. Исследованию этого вопроса посвящено совсем немного работ [105-107].

В работе [105] авторы пересаживали в миокард три типа клеток: фетальные кардиомиоциты (КМЦ), фибробласты и гладкомышечные клетки (ГМК). Пересаженные фибробласты способствовали формированию самого толстого рубца, т. е. оказывали наиболее выраженное влияние на процесс ремоделирования ЛЖ, но функцию сердца улучшали незначительно. Жесткость новообразованного фиброзного рубца может впоследствии ухудшить диастолическое наполнение ЛЖ. Более значительный прирост функциональных показателей был отмечен после пересадки КМЦ и ГМК, причем, после пересадки КМЦ улучшение функции миокарда было более значительным, чем при трансплантации ГМК. Полученные различия объяснили потенциальной возможностью активного сокращения и расслабления пересаженных КМЦ, тогда как ГМК ведут себя пассивно при сокращениях. Из приведенных работ пока только можно предположить, что ГМК и фибробласты неперспективны для лечения ишемического поражения миокарда.

Сегодня нельзя с уверенностью сказать, являются ли нефракционированные СК КМ или другие виды СК, используемые в клинических исследованиях, подходящим материалом для лечения больных различными формами ишемической болезни сердца (ИБС). Более того, в связи с существованием различных методологических подходов к выделению ядродержащих клеток КМ, получаемые фракции клеток могут сильно отличаться друг от друга. Например, при градиентном центрифугировании при использовании сред с разными физическими свойствами можно получить фракцию собственно моноклеарных клеток (лимфоцито-подобных) или фракцию, содержащую и лимфоциты, и зрелые клетки гранулоцитарно-макрофагального ряда периферической крови, которые могут иметь выраженную провоспалительную активность. То же произойдет и при выделении клеток с применением гипотонических растворов, лизирующих эритроциты.

Необходимо иметь в виду, что количество функциональных клеток и их терапевтический потенциал значительно исчерпаны у пожилых и больных людей, и использование взрослых тканей в качестве источника СК может ограничивать получение достаточного количества полноценных клеток [136-138].

Перспективным источником СК может служить пуповинная кровь (ПК) человека, имеющая ряд преимуществ, которые могут использоваться в репаративной кардиологии. Во-первых, клетки ПК могут быть культивированы в неограниченном количестве, при этом не возникают этические проблемы, не наносится вред матери и ребенку [139]. Во-вторых, криозаморозка не влияет на способность клеток к пролиферации и дифференциации, по меньшей мере, в течение 4 лет [140]. В ПК содержится значительно большее количество ГСК, чем в КМ взрослого человека.

ПК малоиммуногенна, и в большинстве экспериментальных исследований трансплантация не требовала иммуносупрессивной терапии [141]. СК ПК обладают способностью к хоумингу, имеют потенциал мио- и ангиогенеза, положительно влияя на функцию ЛЖ и ремоделирование, что было продемонстрировано в многочисленных экспериментальных исследованиях [142–148].

Наконец, трансплантация клеток ПК имеет достаточно долгую и успешную историю в гематологии. Ее безопасность и эффективность подтверждены > 15-летним использованием [140].

На эффективность клеточной терапии могут влиять и многие другие факторы: количество клеток, путь введения и даже локализация ИМ. Есть данные о том, что трансплантация СК более эффективна для лечения больных с исходно более низкой ФВ и/или крупноочаговым ИМ [98,156].

СК КМ могут быть трансплантированы в миокард разными способами. Оптимальный путь должен обеспечивать высокую концентрацию СК в поврежденном миокарде и предотвращать оседание клеток в других органах. Однако оптимальный способ введения неизвестен и, вероятно, в разных клинических ситуациях будут применяться разные способы трансплантации СК. Интракоронарное введение с использованием баллонного катетера представляется относительно безопасным методом доставки клеточного материала в миокард [5-7,96-99,155-156]. Введение клеток в КА, тромбоз которой явился причиной ИМ, казалось бы, позволяет доставить клетки в максимальной концентрации в зону ИМ и перинфарктную ткань. Данная технология используется у больных ОИМ с подъемом сегмента ST и дисфункцией ЛЖ, которым был успешно восстановлен коронарный кровоток. Но возможность диссеминации СК в области ИМ изучена недостаточно. Показано, что при интракоронарной доставке трансплантированные клетки мигрируют в перинфарктную зону и затем продвигаются в зону ИМ так же, как это делают воспалительные клетки, но в перинфарктной зоне обнаруживается больше СК, чем в области ИМ [108]. Внутрикоронарный способ введения клеток для восстановления функции ЛЖ после ИМ имеет несколько существенных ограничений. При внутрикоронарном введении клетки могут “застрять” в мелких капиллярах, не достигнув миокарда, или “затеряться” в системном кровотоке. При обширном ИМ, охватывающем ~ 30 % площади ЛЖ, погибают ~ $1,7 \times 10^9$ КМЦ [109]. После внутрикоронарного введения лишь малая часть клеток остается в сердце [110], а большая часть погибает в течение нескольких сут. или мигрирует [99,111]. CD34+клетки предшественники составляют лишь 1-2 % МККМ [112]. Такое количество клеток недостаточно для достижения клинически значимой регенерации поврежденной ткани сердца. К тому же сама спо-

собность клеток КМ трансдифференцироваться в КМЦ ставится под сомнение [22,113]. А механизмы улучшения функции сердца после трансплантации клеток КМ не установлены [114]. Если основная роль принадлежит ангиогенезу [115], паракринному действию или иммуномодуляции [116], то требуется некоторый временной отрезок для проявления этих эффектов. Однако этот аргумент не поддерживается результатами исследования BOOST, в котором о положительном эффекте трансплантации клеток было сообщено через 6 мес., в то время как через 18 мес. разница между гр. исчезла.

Внутривенное (в/в) введение является наиболее привлекательным с точки зрения клинической практики, поскольку не требует хирургического вмешательства или катетеризации. Однако такой способ введения оправдан при использовании СК с высоким потенциалом к хоумингу и значительно большего количества трансплантируемых клеток по сравнению с локальным введением. Хотя в эксперименте показано, что клетки-предшественники заселяют поврежденный миокард значительно интенсивнее, чем здоровый [117], но трансплантируемые клетки способны заселять и другие органы и ткани. Отсутствие знаний о точном времени, сигналах и механизмах кардиального хоуминга и объеме транспланта может стать ограничением применения такого подхода [118].

Прямое интрамиокардиальное введение СК применяется у больных с дисфункцией сердца, у которых внутрикоронарный способ введения невозможен из-за тотальной окклюзии или недостаточного кровотока в КА, кровоснабжающей поврежденную область.

При трансэпикардиальном способе СК могут быть непосредственно введены по краям зоны ИМ во время операции АКШ [119]. Такой способ позволяет четко контролировать топографию трансплантации и требует относительно небольшого количества клеток. Тем не менее, это инвазивная кардиохирургическая процедура, которая сопряжена с операционным риском, а тканевая гипоксия вызывает гибель значительного числа трансплантированных клеток [118]. Серьезным недостатком является возможность формирования в поврежденном миокарде “островков” клеток из-за их неравномерного распределения. Подобные скопления клеток могут нарушать электромеханические соединения между КМЦ и стать причиной тахикардий [108,120].

Альтернативный малоинвазивный подход для трансэндокардиального введения связан с введением клеток через желудочковый игольчатый катетер (катетер проводится через аортальный клапан или транссептально из правых отделов сердца и устанавливается на поверхности эндокарда). При этом может использоваться электромеханическое картирование, которое позволяет идентифицировать жизнеспособную, ишемизированную или рубцовую области миокарда [121].

Исследований, сравнивающих эффективность разных способов введения СК, недостаточно. В эксперименте сравнивали эффективность интрамиокардиального, внутрикоронарного и ретроградного венозного способов введения. Максимальное содержание клеток в миокарде было зарегистрировано после интрамиокардиальных инъекций [122].

Какой наиболее благоприятный период времени для клеточной терапии — первые сут. ИМ, фаза ремоделирования или еще более поздние сроки заболевания? С одной стороны, выраженные воспалительные процессы в миокарде, обструк-

ция микроваскулярного русла могут препятствовать процессу хоуминга и выживанию клеток в первые дни заболевания [123]. Однако высокое содержание в плазме цитокинов: сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), стимулирующий колонии гранулоцитов фактор (G-CSF) в течение первой нед. ИМ способствует миграции СК в область повреждения [124]. С другой стороны, при наличии сформировавшегося рубца возможности клеточной терапии могут быть значительно ограничены. Эта проблема также остается неразрешенной и требует дальнейшего изучения. В опубликованных недавно обзорах, в которых проанализированы данные клинических исследований в области клеточной терапии ОИМ, отмечено, что улучшение сократимости миокарда было более выраженным в тех случаях, когда клетки вводились на 6-8 сут. заболевания [132,133].

Не менее важен вопрос — какое количество СК необходимо вводить для достижения терапевтического эффекта? В клинических исследованиях не обнаружена корреляция между числом трансплантированных клеток КМ и эффективностью терапии, хотя количество клеток отличалось более чем на порядок. Однако в аналитическом обзоре рандомизированных, клинических исследований (РКИ) указывается, что эффективность кардиомиопластики в отношении ФВ ЛЖ положительно коррелирует с вводимой дозой СК [132,133]. Среднее увеличение ФВ ЛЖ было статистически значимо в исследованиях, в которых использовались более высокие дозы КМСК [98,99]. Обобщая имеющиеся данные, можно предположить, что выраженное влияние на ФВЛЖ можно достигнуть при введении доз $> 10^8$. Это согласуется с представлениями о том, что при ОИМ недостаточное количество эндогенных КМСК мобилизуется в кровоток, или что время для миграции клеток к поврежденной ткани и реализации регенеративных возможностей очень ограничено. Кроме того, такие факторы риска как диабет (СД), артериальная гипертензия (АГ), курение могут ослаблять мобилизацию КМСК [125].

Как известно, в большинстве исследований по клеточной трансплантации используются недифференцированные СК, которые имеют тенденцию дифференцироваться во множество клеточных линий, и лишь малая часть введенных клеток дифференцируется в КМЦ. Это снижает клиническую эффективность терапии для регенерации миокарда пораженного инфарктом. Вероятно, приживление трансплантированных клеток и клиническая эффективность возрастут, если недифференцированные СК будут в какой-то степени “направлены” по кардиомиогенной линии *in vitro* перед трансплантацией. Факторами кардиомиогенной дифференцировки для взрослых СК, особенно МСК КМ, является 5-азациитидин.

Помимо культивирования, другая стратегия направленной дифференцировки СК в КМЦ состоит в совместном культивировании СК с дифференцированными клеточными популяциями. Главное преимущество метода в возможности непосредственного контакта между клетками разных типов с последующим их слиянием *in vivo* [126]. Однако в клинической ситуации кокультивирование кардиомиогенных СК с КМЦ больного невозможно.

При клиническом использовании чрезвычайно важны меры по избеганию инфицирования СК в процессе культивирования. Усилия многих исследователей направлены на создание культуральной среды, в которой минимизирована возможность появления на клеточной поверхности дополнительных белков, которые могут

повысить иммуногенность СК после трансплантации [127].

Клинические исследования по клеточной трансплантации у больных ССЗ, выполненные в последние годы, не позволяют судить о долгосрочных результатах терапии. Необходимо проведение широких РКИ, чтобы определить, действительно ли клеточная кардиомиопластика приведет к длительному стабильному улучшению сердечной функции без отсроченных побочных эффектов. Нельзя исключить появления осложнений в результате использования общей популяции МККМ, которая содержит СК, клетки-предшественники с различной органоспецифичностью и ГСК. Включение каких-либо из этих клеточных типов в миокард может привести к генерации некардиальной ткани и развитию угрожающих жизни аритмий. Гематопозитические клетки-предшественники секретируют значительное количество ангиогенных факторов, в т.ч. VEGF-A, что может привести к отеку и развитию ангиом, а также к разрушению сосудов с геморрагией. Экспериментально установлено, что VEGF-A и воспалительные клетки могут усилить формирование атеромы, отчасти за счет мобилизации ЭКП и моноцитов [128].

Внутрикоронарные инъекции МСК в эксперименте на собаках сопровождались развитием острой ишемии миокарда и микроинфаркта [129].

В исследовании, изучавшем эффективность фактора, стимулирующего колонии гранулоцитов (ФСКГ) в плане улучшения сократительной функции сердца, инъекция ФСКГ с последующей внутрикоронарной инфузией СК периферической крови, была выявлена высокая частота рестенозов в стентах, что заставило прекратить исследование [130].

Другое соображение относительно клеточной трансплантации касается безопасности использования недифференцированных СК периферической крови. Недифференцированные СК взрослого лишены способности формировать тератомы, но могут дифференцироваться в другие нежелательные типы клеток. В одном исследовании трансплантация недифференцированных МСК в поврежденный миокард привела к дифференцировке некоторой части этих клеток в фибробласты рубцовой ткани, что ухудшило сократительную функцию сердца [131].

Заключение

Несмотря на неоднозначные результаты исследований терапевтической эффективности СК, анализ имеющихся данных позволяет сделать вывод об относительной безопасности клеточной терапии для больных ОИМ и хронической ИБС. Аритмии, реинфаркты, рестенозы, повторные госпитализации и реваскуляризации у пациентов, которым была произведена трансплантация СК, происходили не чаще, чем у больных, получавших традиционную терапию [132,133].

Результаты мета-анализа также указывают на возможность улучшения ФВ ЛЖ, уменьшения размеров рубцовой зоны и ремоделирования посредством клеточной терапии. Однако механизм действия клеточной терапии остается не ясен. Также неразрешенными остаются и многие технические вопросы: количество трансплантируемых клеток, оптимальный тип клеток, способ подготовки и трансплантации, время введения от начала заболевания, отдаленный прогноз клеточной терапии.

Несмотря на достаточно обнадеживающие данные, успехи в области применения клеточных технологий на практике пока еще очень скромны. Как правило, СК вводятся на фоне других лечебных воздействий — стентирования, КШ. Поэтому не ясно, какая манипуляция вносит основной вклад в улучшение состояния миокарда при ИМ. Остаются нерешенными не только практические вопросы, но и фундаментальные: продолжительность действия трансплантированных клеток, возможности маркирования клеток; определение оптимальных показаний для трансплантации; разработка новых

методик к увеличению локальной концентрации СК. Остается не ясен механизм действия клеточной терапии.

Исследования в области клеточной терапии находятся на начальном этапе развития, когда выдвигаются новые гипотезы, появляются оригинальные технологии и идет накопление фактического материала. Для более глубокого изучения возможностей использования СК в кардиологии требуется проведение фундаментальных работ в этом направлении, обработка информации от тысяч больных, наблюдение за которыми следует проводить в течение многих лет.

Литература

(ссылки № № 1-95 смотрите в части I обзора, опубликованном в журнале Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2011; 10(2): 122-128)

96. Assmus B, Honold J, Schächinger V, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1222-32.
97. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, et al. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1199-209.
98. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 367: 113-21.
99. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006; 113: 1287-94.
100. Strauer B, Brehm M, Zeus T, et al. Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study. *JACC* 2005; 46: 1651.
101. Tse H, Kwong Y, Chan J, et al. Angiogenesis in ischemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003; 361: 47.
102. Fuchs S, Sattler L, Kornowski R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. *JACC* 2003; 41: 1721.
103. Perin E, Dohman H, Borojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294.
104. Haider H. Bone marrow cells for cardiac regeneration and repair: current status and issues. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2006; 4: 557-68.
105. Sakai T, Li RK, Weisel RD et al. Fetal cell transplantation: a comparison of three cell types. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 118: 715-25.
106. Hutcheson KA, Atkins BZ, Hopkins MB, et al. Comparing cell types for cellular cardiomyoplasty: analysis of improved diastolic properties with autologous skeletal myoblasts and fibroblasts. *Circ* 1999; 100 (suppl I): I-118.
107. Agbulut O, Vandervelde S, Attar NA, et al. Comparison of human skeletal myoblasts and bone marrow-derived CD133+ progenitors for the repair of infarcted myocardium. *JACC* 2004; 44: 458-63.
108. Timmermans F, De Sutter J, Gillebert T. Stem cells for the heart? are we there yet? *Cardiology* 2003; 100; 4: 176-85.
109. Beltrami CA, Finato N, Rocco M, et al. Structural basis of end-stage failure in ischemic cardiomyopathy in humans. *Circulation* 1994; 89: 151-63.
110. Penicka M, Widimsky P, Kobylka P, et al. Early tissue distribution of bone marrow mononuclear cells after transcoronary transplantation in a patient with acute myocardial infarction. *Circulation* 2005; 112: e63-5.
111. Geng YJ. Molecular mechanisms for cardiovascular stem cell apoptosis and growth in the hearts with atherosclerotic coronary disease and ischemic heart failure. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1010: 687-97.
112. Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, et al. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med* 2004; 10: 494-501.
113. Chien KR. Stem cells: lost in translation. *Nature* 2004; 428: 607-8.
114. Fuchs S, Baffour R, Zhou YF, 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.
115. 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.
116. Thum T, Bauersachs J, Poole-Wilson P, et al. The dying stem cell hypothesis: immune modulation as a novel mechanism for progenitor cell therapy in cardiac muscle. *JACC* 2005; 46: 1799-802.
117. Nagaya N, Fugii T, Iwase T, et al. Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: 2670-6.
118. Siepe M, Heilmann C, von Samson P, et al. Stem cell research and cell transplantation for myocardial infarction. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005; 28: 318-24.
119. Ghodsizad A, Klein HM, Borowski A, et al. Intraoperative isolation and processing of BM-derived stem cells. *Cytotherapy* 2004; 6(5): 523-6.
120. Lee M, Makka R. Stem-cell transplantation in myocardial infarction: a status report. *Ann Intern Med* 2004; 140(9): 729-37.
121. Perin E, Silva G, Sarmento-Leite R, et al. Assessing myocardial viability and infarct transmural extent with left ventricular electromechanical mapping in patients with stable coronary artery disease: validation by delayed-enhancement magnetic resonance imaging. *Circulation* 2002; 107: 957-61.
122. Hou D, Youssef EA, Brinton T, et al. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation* 2005; 112(Suppl.1): 150-6.
123. Rochitte C, Lima J, Bluemke D, et al. Magnitude and time course of microvascular obstruction and tissue injury after acute myocardial infarction. *Circulation* 1998; 98: 1006-14.
124. Pannitteri G, Petrucci E, Testa U. Coordinate release of angiogenic growth factors after acute myocardial infarction: evidence of a two-wave production. *J Cardiovasc Med* 2006; 7: 872-9.
125. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely

- correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* (2001) 89: E1-7.
126. Baddorf C, Brandes R, Popp R, et al. Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. *Circulation* 2003; 107: 1024-32.
127. Heng B, Haider H, Sim E, et al. Strategies for directing the differentiation of stem cells into the cardiomyogenic lineage in vitro. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 34-42.
128. Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ organ vasculature. *Nat Med* 2003; 9: 712.
129. Vulliamy PR, Greeley M, Halloran SM, et al. Intracoronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004; 363: 783-4.
130. Kang HJ, Lee HY, Na SH, et al. Differential effect of intracoronary infusion of mobilized peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor on left ventricular function and remodeling in patients with acute myocardial infarction versus old myocardial infarction: the MAGIC Cell-3-DES randomized, controlled trial. *Circulation* 2006; 114: 1145-51.
131. Breitbach M, Bostani T, Roell W, et al. Potential risks of bone marrow cell transplantation into infarcted hearts. *BLOOD* 2007; 110: 1362.
132. Michael J, Lipinski, Giuseppe G, et al. Impact of Intracoronary Cell Therapy on Left Ventricular Function in the Setting of Acute Myocardial Infarction: A Collaborative Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials. *JACC* 2007; 50: 1761-7.
133. Ahmed Abdel-Latif, Roberto Bolli; Imad M, et al. Adult Bone Marrow-Derived Cells for Cardiac Repair: A Systematic Review and Meta-analysis. *Arch Intern Med* 2007; 167: 989-97.
134. Yousef M, Schannwell CM, Kosterling M, et al. The BALANCE study. Clinical benefit and long-term outcome after intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in patients with acute myocardial infarction. *JACC* 2009; 53: 2262-9.
135. Forrester JS, Makkar RR, Marban E. Long-term outcome of stem cell therapy for acute myocardial infarction. *JACC* 2009; 53: 2270-2.
136. Guolong Yu, Borlongan C, Stahl Ch, et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells for the repair of myocardial infarction. *Med Sci Monit* 2008; 14(10): 163-72.
137. Scheuber RJ, Zorn H, Silber RE, et al. Age-dependent depression in circulating endothelial progenitor cells in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *JACC* 2003; 42: 2073-80.
138. Eizawa T, Ikeda U, Murakami Y, et al. Decrease in circulating endothelial progenitor cells in patients with stable coronary artery disease. *Heart* 2004; 90: 685-6.
139. Newman MB, Davis CD, Borlongan CV, et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells in the repair of CNS diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2004; 4: 121-30.
140. Broxmeyer HE, Srour EF, Hangoc G, et al. High-efficiency recovery of functional hematopoietic progenitor and stem cells from human cord blood cryopreserved for 15 years. *Proc Nat Acad Sci USA* 2003; 100: 645-50.
141. Wagner JE, Kernan NA, Steinbuch M, et al. Allogeneic sibling umbilical-cord-blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. *Lancet* 1995; 346: 214-9.
142. Henning RJ, Abu-Ali H, Balis JU, et al. Human umbilical cord blood mononuclear cells for the treatment of acute myocardial infarction. *Cell Transplant* 2005; 13: 729-39.
143. Hirata Y, Sata M, Motomura, et al. Human umbilical cord blood cells improve cardiac function after myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 327: 609-14.
144. Kim BO, Tian H, Prasongsukarn K, et al. Cell transplantation improves ventricular function after myocardial infarction: a preclinical study of human unrestricted somatic stem cells in a porcine model. *Circulation* 2005; 112(suppl): 196-204.
145. Ma N, Ladilov Y, Kaminski A, et al. Umbilical cord blood cells transplantation for myocardial regeneration. *Transplant Proc* 2006; 38: 771-3.
146. Hu CH, Wu GF, Wang XQ, et al. Therapeutic potential of human umbilical cord derived stem cells in a rat myocardial infarction model. *Ann Thorac Surg* 2007; 83: 1492-8.
147. Yamada Y, Yokoyama S, Fukuda N, et al. A novel approach for myocardial regeneration with educated cord blood cells cocultured with cells from brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 353: 182-8.
148. Cortes-Morichetti M, Frati G, Schussler O, et al. Association between a cell-seeded collagen matrix and cellular cardiomyoplasty for myocardial support and regeneration. *Tissue Eng* 2007; 13: 2681-7.
150. Spyridonidis A., Zeiser R., Folio M. et al. Stem cell plasticity: the debate begins to clarify. *Stem Cell Rev* 2005; 1: 37-43.
151. Рябов В.В., Марков В.А., Попонина Ю.С. и др. Цитокины и аутологичные мононуклеарные клетки костного мозга в процессах восстановительной регенерации при инфаркте миокарда. *Кардиоваск тер профил* 2007; 5.
152. Руда М.Я., Староверов И.И., Жукова Н.С. и др. Опыт использования стволовых клеток в лечении больных острым инфарктом миокарда с низкой фракцией выброса. *Кардиология* 2009; 7-8: 19-24.
153. Ахмедов Ш.Д., Бабокин В.Е., Коркин Ю.Г. и др. Аутологичные стволовые клетки в лечении хронической сердечной недостаточности. Хирургические и моральные аспекты. "Стволовые клетки: законодательство, исследования и инновации. Международные перспективы сотрудничества" (тез. докл.) Москва 2007.
154. Акчурин Р.С., Рахмат-Заде Т.М., Скридлевская Е.А. и др. Аутологичные культивированные костномозговые стволовые клетки в хирургическом лечении хронической сердечной недостаточности. "Стволовые клетки: законодательство, исследования и инновации. Международные перспективы сотрудничества" (тез. докл.), Москва 2007.
155. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004; 364: 141-8.
156. Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1210-21.

Поступила 23/09-2009