

Г.Г. Хубулава<sup>1</sup>, К.Л. Козлов<sup>2</sup>, В.Н. Кравчук<sup>1</sup>,  
А.Н. Шишкевич<sup>1</sup>, С.С. Михайлов<sup>1</sup>, Н.Г. Лукьянов<sup>1</sup>

## Направления клеточной терапии в лечении сердечной недостаточности

<sup>1</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург

**Резюме.** Несмотря на серьезные успехи терапии, прогноз у больных, страдающих сердечной недостаточностью остается крайне неблагоприятным. Это в первую очередь связано с тем, что лечение носит паллиативный характер и не устраняет основную причину заболевания – потерю сердечной ткани. Клеточная терапия с использованием стволовых клеток решает эту задачу и позволяет в той или иной мере добиться регенерации миокарда. Таким образом удается исключить причину сердечной недостаточности. Со времени первого доклада по клеточной терапии сердечной недостаточности с использованием скелетных миобластов в 1998 г. и до сегодняшнего дня проведено большое количество исследований, которые подтверждают способность различных популяций стволовых клеток улучшить функцию миокарда и уменьшить зону инфаркта миокарда в лечении как ишемической, так и неишемической кардиомиопатии. Также была открыта способность миокарда к самообновлению за счет региональных (сердечных) стволовых клеток, что дало новый толчок в развитии клеточной терапии сердечной недостаточности. Кроме того, разработано несколько методик доставки стволовых клеток в миокард, что позволяет более эффективно проводить клеточную терапию. Многие важные вопросы, такие как механизм действия стволовых клеток, их длительность приживления, наиболее подходящий тип, объем, способы и частота доставки остаются нерешенными. До сих пор нет убедительного доказательства эффективности использования стволовых клеток.

**Ключевые слова:** стволовые клетки, инфаркт миокарда, застойная сердечная недостаточность, регенерация миокарда, клеточная трансплантология, клеточная терапия, ремоделирование левого желудочка, кардиомиоциты.

Сердечная недостаточность (СН) – довольно распространенное, инвалидизирующее и смертельное заболевание. Распространенность СН в развитых странах в настоящий момент достигла масштабов эпидемии и продолжает расти. Несмотря на успехи терапевтического лечения, появляющиеся новые лекарственные средства, прогноз у данных больных крайне неблагоприятный и смертность выше, чем у больных раком молочной железы или толстой кишки. Например, в Соединенных Штатах Америки от СН погибает более 300000 человек в год, а расходы здравоохранения составляет около 40 млрд долларов.

Сердце взрослого человека не содержит стволовых или резервных клеток. При разрушении кардиомиоцитов (вследствие инфаркта миокарда (ИМ), или другой патологии сердца) происходит невосполнимая утрата миокарда и замещение его неспособными к сокращению фиброзными клетками. Нелечимая ишемия миокарда приводит к гипертрофии и, в конце концов, к застойной СН. Таким образом, основное значение клеточной терапии состоит во введении клеток, способных к делению и восстановлению функционирующей мышцы сердца [1].

Хотя современные методы терапевтического лечения СН уменьшают симптоматику заболевания, повышают уровень качества жизни пациента все-же являются паллиативными по своей сути. Именно по

этой причине терапия стволовыми клетками (СК) вызвала настоящий интерес, поскольку не исключает потенциал кардинально изменить лечение и прогноз у пациентов, страдающих СН, посредством регенерации миокарда [1].

Первое исследование клеток костного мозга в лечении острого ИМ в эксперименте было опубликовано в 2001 г., а через год это лечение получили уже четыре пациента. В случае СН этот срок составил три года. Всего за последние 15 лет было выполнено большое количество клинических и доклинических исследований с использованием различных типов СК.

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) – это плюрипотентные клетки, полученные из внутренней клеточной массы предимплантационной стадии бластоцисты, способные дифференцироваться в клетки трех зародышевых листков, а именно экто-, эндо- и мезодермы (в том числе и кардиомиоциты). Фетальные кардиомиоциты, которые получают из тела эмбриона путем механической или химической экстракции способны превращаться во взрослые кардиомиоциты с правильно организованными внутриклеточными структурами, экспрессирующими кардиоспецифические факторы транскрипции, такие как Nkx2.5, GATA-4 и MEF2C. Также они проявляют спонтанную активность, характерную для предсердий, желудочков и пейсмекерных центров.

Мощный кардиогенный потенциал ЭСК и доступность эмбриональных кардиомиоцитов подтолкнула ученых к изучению их эффективности при сердечной недостаточности, однако несмотря на задокументированную возможность дифференцировки ЭСК во взрослые кардиомиоциты, как этические, так и биологические причины помешали дальнейшему развитию этого направления клеточной терапии СН. В частности, из-за плюрипотентности эти клетки после трансплантации могут перерождаться в тератому с последующим отторжением трансплантата.

С конца 1990-х гг. считалось, что ЭСК – это прорыв в медицине, который откроет ранее невиданные возможности в лечении всех болезней человека [7]. Однако никаких клинических исследований за прошедший период времени проведено не было. На протяжении того же времени, взрослые СК благополучно использовались на тысячах пациентов, и результаты были достаточно обнадеживающими. Таким образом у терапии на основе ЭСК нет будущего с точки зрения клинического применения, по крайней мере, в ближайшие несколько лет.

*Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК).* В 2006 г., Takahashi и Yamanaka [25] получили популяцию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) из взрослых фибробластов мышей с факторами транскрипции OCT3/4, Sox2, c-Myc, и Klf4 (факторы Яманак). Эти ИПСК в ходе развития обладают свойствами, характерными для эмбриональных стволовых клеток. Также было показано, что кардиомиоциты, полученные из ИПСК обладают свойствами типичных кардиомиоцитов, такими как спонтанная возбудимость, сокращение, проведение. Однако до настоящего времени нет исследований, специально оценивающих терапевтический потенциал ИПСК на животных моделях СН. Хотя ИПСК очень перспективны в использовании для лечения СН, транскрипционные факторы, используемые для генерации этих клеток (c-Myc, Oct4 и Klf4) известны как онкогены, которые могут стимулировать развитие тератомы [21]. К числу других проблем относятся низкая производительность новых клеток и изменчивость от одной клеточной линии к другой. Учитывая стремительно развивающиеся технологии в области клеточной терапии, эти проблемы, возможно, будут решены, но на сегодняшний день ИПСК непригодны для лечения СН.

*Скелетные миобласты (СМ),* также называемые сателлитными клетками, являются предшественниками мышечных клеток взрослого человека и в норме существуют в дремлющем состоянии под базальной мембраной скелетных мышечных волокон. При травмировании мышцы, эти клетки подвергаются пролиферации и дифференцируются в мышечные трубочки и волокна, тем самым восстанавливая мышцу. Благодаря простоте забора, быстрому росту *invitro*, устойчивости к гипоксии скелетные миобласты были первыми клетками, которые прошли доклинические и клинические испытания в лечении СН.

Оценка способности СМ в лечении сердечной недостаточности была произведена на малых и больших животных моделях. При введении как интракоронарно, так и непосредственно в толщу миокарда СМ дифференцировались в мышечные трубочки и жизнеспособные поперечно-полосатые мышечные волокна, что приводило к остановке негативного ремоделирования левого желудочка (ЛЖ), интерстициального фиброза и улучшало функцию ЛЖ. Уменьшение фиброза было объяснено корреляцией дисбаланса между матричными протеиназами и тканевыми ингибиторами матриксных протеиназ.

Эти обнадеживающие результаты исследований на животных были перенесены на клинические испытания. Первые трансплантации миобластов у человека провел P.Menasche et al. [14] при лечении тяжелой ишемической СН. В первой фазе этого исследования участвовало 10 человек с тяжелой СН с фракцией выброса (ФВ) менее 35% и наличием зон акинезий, подтвержденных на стресс-эхокардиографии с добутамином и позитронно-эмиссионной томографии. В рубцовую ткань ЛЖ вводились 870 млн клеток (86% миобластов) во время аортокоронарного шунтирования (АКШ), что приводило в последующем к значительному снижению класса СН. Результаты, однако, было довольно трудно интерпретировать из-за смешения эффектов от реваскуляризации и клеточной терапии и отсутствия подходящей контрольной группы. Кроме того, у четверых больных наблюдались желудочковые тахикардии, потребовавшие имплантации кардиовертера-дефибриллятора, что было объяснено нарушением электромеханической связи между вновь образовавшимися мышечными волокнами и кардиомиоцитами.

После этого еще несколько небольших нерандомизированных исследований показали улучшение функции, уменьшение отрицательного ремоделирования ЛЖ и гистологические доказательства выживания миобластов после их трансплантации в миокард у пациентов с ишемической кардиомиопатией (ИКМ). Основываясь на многообещающих результатах вышеобозначенных исследований, P. Menasche et al. [15] провели вторую фазу рандомизированного, плацебо-контролируемого, двойного слепого исследования MAGIC по изучению последствий интрамиокардиального введения миобластов в количестве 400 и 800 миллионов во время АКШ против группы только с АКШ из 97 пациентов с ФВЛЖ 15–35%. Не было получено никаких существенных различий в сердечной функции и возникновении злокачественных аритмий между исследуемой и контрольной группами за 6 месяцев наблюдения. Однако было установлено, что в подгруппе АКШ, получившей 800 млн клеток, выявлено замедление ремоделирования и уменьшение объема ЛЖ против подгруппы АКШ и использования 400 млн клеток.

Другое двойное, слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое многоцентровое исследование MARVEL, с использованием транскатетерной

доставки миобластов в миокард и с участием 330 пациентов, было досрочно прекращено из-за проблем с финансированием, однако предварительные результаты показали у 23 пациентов улучшение показателей 6-минутной ходьбы через 3 и 6 месяцев, а также увеличение случаев возникновения устойчивой желудочковой тахикардии у 7 из 15 пациентов [20].

Долгосрочные последствия трансплантации миобластов пациентам с ИКМ были оценены в четырех исследованиях. Хотя в трех из них улучшалась сердечная функция, миобласты были пересажены во время хирургической реваскуляризации, что затрудняет интерпретацию результатов.

В четвертом исследовании [28], где миобласты вводились транскатетерно не отмечено улучшения глобальной и региональной сократимости ЛЖ за четырехлетний период. Эти выводы согласуются с результатами открытого проспективного рандомизированного исследования SEISMIC [8]. В этом исследовании не отмечено улучшения функции ЛЖ к шестому месяцу наблюдения, хотя результаты 6-минутной ходьбы улучшились.

Таким образом, проведенные вначале небольшие нерандомизированные исследования по использованию миобластов в лечении СН дали обнадеживающие результаты, однако крупнейшее на сегодняшний день рандомизированное исследование MAGIC не подтверждает эти выводы. При этом, что многие из этих наблюдений были выполнены в сочетании или после АКШ, что затрудняет оценку вклада трансплантации миобластов в конечный результат.

Из-за плохих результатов MAGIC, риска аритмий, а также наличия других направлений клеточной терапии, заинтересованность в скелетных миоблестах на сегодня исчезла и вряд ли появится в будущем.

**Костно-мозговые стволовые клетки.** Костный мозг состоит из различных типов гемопоэтических и негемопоэтических СК, которые имеют потенциал для дифференцировки в различные типы клеток. Из-за относительно большей концентрации СК в костном мозге и простоты забора, большая часть доклинических и клинических исследований лечения СН проводилась с использованием костно-мозговых СК.

**Нефракционированные костно-мозговые мононуклеары (НКММ).** Мононуклеары костного мозга представляют собой гетерогенные популяции, состоящие из МСК, гемопоэтических СК, эндотелиальных клеток предшественников и более совершенных клеточных линий. Так как НКММ могут быть легко выделены при помощи центрифугирования и не требуют сложных методов культивирования, они были использованы многими исследователями на животных моделях острого инфаркта миокарда. Сравнительно меньше исследований проведено для лечения хронической сердечной недостаточности (ХСН) результатах которых являются противоречивыми. В исследованиях на овцах и свиньях при введении мононуклеаров в рубцовую ткань не было отмечено улучшения функции ЛЖ, хотя зафиксированы усиление ангиогенеза и уменьшение размеров рубца.

В других исследованиях лечения СН у собак и крыс, напротив, отмечалось улучшение функции миокарда, снижение в плазме крови натрий-уретического пептида и стимуляция ангиогенеза.

Противоречивые результаты получены также и у больных с СН. Впервые безопасность и эффективность использования НКММ в лечении СН у человека была оценена E.C. Perin et al. [18] путем инъекции клеток через эндокард при помощи катетера NOGA Myostar. Через 2 и 4 месяца после лечения было отмечено значительное увеличение ФВЛЖ и уменьшение конечного систолического объема ЛЖ. При контроле через 6 и 12 месяцев эти пациенты продемонстрировали не только улучшение работы сердца, но и увеличение перфузии миокарда и повышение толерантности к физической нагрузке по сравнению с контрольной группой. Подобные результаты были получены и другими исследователями, которые сообщают, что интрамиокардиальное введение мононуклеаров во время операции или при помощи катетера NOGA уменьшает степень симптомов СН и улучшает функцию левого желудочка с тяжелой СН [2]. Исследования, где пациентам с ИСН мононуклеары вводились в рубец, не показали улучшения функции ЛЖ. Причина таких различий не совсем понятна, возможно это связано с зоной доставки клеток.

В дополнение к интрамиокардиальному введению, часть исследований изучала влияние интракоронарного введения мононуклеаров, при этом сообщалось об улучшении различных показателей функции и анатомии ЛЖ. В исследовании TOPCARE-CHDB. Assmus et al. [3] сравнивали эффективность влияния интракоронарной инфузии эндотелиальных клеток предшественников в объеме  $22 \pm 11 \cdot 10^6$  или НКММ на глобальную функцию левого желудочка у 75 пациентов с хронической ИКМ. Через три месяца после лечения отмечено значительное улучшение функции ЛЖ у пациентов, получивших мононуклеары, в отличие от второй группы. Однако в других исследованиях не удалось подтвердить благотворное влияние интракоронарного введения мононуклеаров в лечении СН. Например, при интрамиокардиальном или интракоронарном введении во время АКШ не было отмечено улучшения локальной и регионарной сократительной функции ЛЖ, уменьшения размеров рубца.

Использование НКММ также изучалось в лечении ишемической кардиомиопатии. В исследовании TOPCARE-DCM внутрикоронарное введение мононуклеаров в количестве  $259 \pm 135 \cdot 10^6$  у 33 пациентов с дилатационной кардиомиопатией улучшало сократительную функцию ЛЖ и уменьшение мозгового натрий-уретического пептида в крови, что позволяет предположить благоприятное влияние на ремоделирование ЛЖ.

Таким образом, исследования с НКММ в лечении хронической ишемической СН дали противоречивые результаты. Однако эти исследования были небольшими и требуется продолжение изучения этой проблемы.

*Мезенхиальные стволовые клетки* (МСК), также известные как стромальные клетки костного мозга являются подмножеством негемопоэтических клеток, которые обладают мультипотентностью и способны к адгезии на пластик при культивировании. МСК могут дифференцироваться в хондроциты, адипоциты, остеобласты и клетки скелетных мышц, а также сообщалось об их способности дифференцироваться в кардиомиоциты и эндотелиальные клетки, хотя этот кардиогенный потенциал остается спорным. На поверхности МСК обычно находятся антигены CD105, CD73, CD90, STRO-1, но отсутствуют гемопоэтические маркеры CD45, CD34 и CD14/CD11b.

Результаты использования МСК в животных моделях были довольно обнадеживающими. Интрамиокардиальное введение аллогенных МСК в ишемизированный миокард собак приводило к улучшению функции и кровоснабжения миокарда. Однако введение МСК в постинфарктный рубец не уменьшало негативного ремоделирования ЛЖ и зоны инфаркта. Эти данные составляют основу для продолжающегося рандомизированного, двойного, слепого, плацебо-контролируемого исследования аутологичных МСК у больных с хронической ишемической дисфункцией ЛЖ, перенесших АКШ. В крысиных моделях ишемической и неишемической кардиомиопатии интрамиокардиальное введение МСК показало улучшение функции сердца, увеличение ангиогенеза и уменьшение миокардиального фиброза. На сегодняшний день единственное клиническое исследование которое изучило способность МСК в лечении больных, страдающих СН, является POSEIDON в котором сравнивались три дозы вводимых МСК (20, 100 и 200×10<sup>6</sup>). Было показано, что все дозы оказывали благоприятное влияние на функцию и ремоделирование ЛЖ [9].

*Гемопоэтические стволовые клетки* (ГСК) и *эндотелиальные клетки предшественники* (ЭКП). ГСК находятся в костном мозге и дифференцируются в клетки как миелоидного, так и лимфоидного ряда. ЭКП в ответ на ишемию мигрируют в периферическую кровь и способствуют неореваскуляризации путем дифференцировки в ЭК. Оба типа клеток содержат на своей поверхности маркер CD34+. Таким образом CD34+ клетки находятся в костном мозге и в периферической крови и обладают потенциалом для того, чтобы дифференцироваться в различные типы клеток крови, а также ЭК. Аутологичные CD34+ клетки были трансплантированы у пациентов как с ишемической, так и неишемической кардиомиопатией. Проведенные исследования показали, что трансплантация клеток в периинфарктную зону во время операции АКШ значительно улучшают результаты хирургического лечения. Кроме того, пилотное исследование по оценке безопасности и возможности интракоронарного введения клеток CD133+ или CD133-, CD34+ у пациентов с состоявшимся ИМ показало устойчивое улучшение региональной перфузии и ремоделирования ЛЖ с использованием обоих типов клеток. При оценке результатов лечения дилатационной кардиомиопатии

также было выявлено увеличение ФВЛЖ и результатов 6-минутной ходьбы, а также уменьшение мозгового натрий-уретического гормона. С. Stamm et al. [24] провели исследование влияния интрамиокардиального введения клеток CD133+ во время АКШ у пациентов с ишемической СН. Через 6 месяцев после лечения ФВ и перфузия миокарда оказались достоверно выше, чем у пациентов получивших только АКШ.

Е.С. Perin et al. [19] исследовал новую популяцию гемопоэтических клеток, называемых альдегид-дегидрогеназа-позитивные клетки (ALDHbr), на 20 пациентах. Клетки, выделенные из костного мозга и периферической крови экспрессируют CD34, CD117, CD105, CD133 и CD166 маркеры. Трансэндокардиальное введение ALDHbr-клеток в значительной степени снижает конечно-систолический объем ЛЖ.

Начальный опыт работы с CD34+ и CD133+ клетками в лечении СН обнадеживает, но до сих пор не было серьезных исследований.

*Мезенхиальные стволовые клетки из жировой ткани.* Жировая ткань содержит пул полипотентных СК, которые способны делиться как недифференцированные клетки и развиваться как зрелые адипоциты, а также другие типы клеток мезенхиального роста. На животных моделях показано, что данные клетки способны дифференцироваться в кардиомиоциты и эндотелиоциты. Y. Miyaharac et al. [17] сообщили о трансплантации МСК в рубцовую ткань, что приводило к улучшению сердечной функции. В других исследованиях также было показано улучшение сократительной функции и реваскуляризации ЛЖ в зоне рубцовой ткани [29]. В клиническом использовании нет полноценных исследований использования МСК из жировой ткани.

*Сердечные стволовые клетки.* Самым необычным событием в лечении заболеваний сердца стало недавнее открытие того, что сердце взрослого человека постоянно обновляется, в том числе и кардиомиоциты [12]. Считается, что этот процесс обеспечивается популяцией резидентных стволовых клеток, способных дифференцироваться в кардиомиоциты, гладкомышечные клетки и эндотелиоциты. Открытие, что сердце – это самообновляющийся орган дало новые возможности для лечения СН.

*S-Kit+ сердечные стволовые клетки.* В исследованиях А. Бельтрама с соавторами [5] в 2000–2003 гг. в миокарде крыс была обнаружена субпопуляция клеток-сателлитов сердечной мышцы (Sca-1+, lin-, CD45-, CD31+, CD38+ c-kit+), которые располагались в месте повреждения ткани и предположительно мобилизовались там в момент повреждения. В последствии было доказано, что потенциальным активатором данных клеток является быстрая индукция фактора СК после ишемии миокарда. *In vitro* и *in vivo* было показано, что эти клетки самообновляются, мультипотентны, способны дифференцироваться в кардиомиоциты, миоциты и эндотелиоциты. В эти же годы Д. Орлик с соавторами [27], выявили, что трансплантация клеток lin-/c-kit+ способствует ре-

генерации миокарда, эндотелия и гладких мышечных клеток, а также улучшает сердечную деятельность у мышей с артериальной окклюзией. При этом конечное диастолическое давление ЛЖ уменьшилось на 36%, а новые миоциты экспрессировали MEF-2, GATA- 4 и коннексин.

Четыре года спустя похожие c-Kit+ клетки были найдены у взрослого человека. Инъекция человеческих сердечных СК в зону ИМ у грызунов привела к улучшению сократимости ЛЖ и формированию химерного сердца, которое включало человеческий миокард и миоциты коронарных артерий [4].

В последнее десятилетие способность человеческих сердечных СК к уменьшению класса СН и ремоделирования ЛЖ была продемонстрирована на различных животных моделях острого ИМ. Доказательства того, что ишемическая кардиомиопатия связана с потерей функциональной активности сердечных СК зародила новый интерес в изучении этой проблемы. Интрамиокардиальное введение c-Kit+ СК сердца после окклюзии коронарной артерии на границе зоны инфаркта и здорового миокарда у крыс приводило к замене 42% рубца миокардиальной тканью и сохранению функции ЛЖ [22]. Тем не менее, в современной медицине, большинство инфарктов имеют реперфузионную природу. Кроме того, с практической точки зрения, наиболее удобно доставлять сердечные СК больным с СН интракоронарно. Для решения этих проблем Tang et al. [26] исследовали эффективность регенерации сердечной мышцы и уменьшения постинфарктного ремоделирования ЛЖ путем интракоронарного введения при состоявшемся ИМ вследствие окклюзии коронарной артерии с последующей реперфузией. Через один месяц после коронарной окклюзии с последующей реперфузией крысам интракоронарно вводились сердечные СК. Через 35 дней у крыс которым вводились СК, была значительно меньше зона инфаркта миокарда, меньше фиброз в неинфарктной зоне и лучше функция ЛЖ. Однако число СК было слишком мало, чтобы учесть их механическое влияние на улучшение функции ЛЖ (2,6% клеток в зоне инфаркта и 1,1% в неинфарктной области). Эти наблюдения позволили предположить, что важным механизмом лечебного действия сердечных СК явилась секреция цитокинов и факторов роста, что оказало паракринное воздействие на эндогенные клетки, особенно эндогенные СК, которые в свою очередь делятся и дифференцируются во взрослые клетки сердца. Похожие результаты были получены и на модели свиньи, что послужило толчком для проведения клинических испытаний.

SCIPIO была первой фазой открытого рандомизированного исследования аутологичных сердечных СК в лечении ишемической СН. Примерно через 4 месяца после операции АКШ (1 млн аутологичных сердечных СК, изолированных и выращенных из ткани миокарда, собранного во время операции) вводили путем интракоронарной инфузии, при этом контрольная группа не получала лечения. Хотя двухлетний период не был

завершен, промежуточные результаты были очень обнадеживающие [6]. У 20 пациентов, получавших СК, ФВ увеличилась с 29 до 36% через 4 месяца наблюдения, а в группе контроля изменений не было. Кроме того, лечебный эффект СК сохранялся, и был еще более выраженным через 1 и 2 года наблюдения. У девяти пациентов, которым выполнялось МРТ было отмечено уменьшение размера зоны ИМ с 35 до 21 г через 4 месяца и до 19 г через год. Клинически это проявлялось снижением функционального класса СН и повышением качества жизни пациентов.

Помимо благоприятного влияния сердечных СК на ИКМ на моделях крыс также было показано эффективное действие при кардиомиопатии индуцированной антрациклином.

Ряд исследований документально подтвердили способность сердечных СК к стимуляции регенерации и уменьшению дисфункции и ремоделирования ЛЖ в различных доклинических моделях, постинфарктной кардиомиопатии. Важен, также и то факт, что первые СК сердца были получены из правого предсердия, но сегодня эти клетки можно получить также из эндомиокардиального биоптата, что делает возможным применение данного вида лечения практически у любых пациентов с СН.

*Кардиосферы и кардиосфер-продуцируемые клетки.* В 2004 г. E. Messina et al. [16], используя клетки, полученные из биоптата предсердий и желудочков человека и мышей, выделили популяцию клеток, которые объединялись в кластеры и дифференцировались в кардиомиоциты, эндотелиоциты и гладкомышечные клетки, они в последствие были названы кластерами «кардиосферами». Через три года R.R. Smith et al. [23] продемонстрировали метод, где кардиосферы полученные из биоптата миокарда далее invitro развивались в кардиосфер-продуцируемые клетки (КПК). При этом сообщалось, что КПК способны дифференцироваться в электрически стабильные кардиомиоциты invitro и при пересадке в инфарктную модель мышей улучшалась сердечная регенерация и функция миокарда. В 2009 г. P.V. Johnston et al. [10] доложили, что доставка человеческих КПК в свинье сердца, перенесшие ОИМ, уменьшает зону ОИМ и сокращают прогрессию неблагоприятного моделирования, а также улучшает функцию ЛЖ.

Фенотипически кардиосферы и КПК представляют из себя гетерогенную смесь различных типов клеток, включая клетки, которые экспрессируют маркеры эндотелиальных (KDR [human]/ flk-1 [mouse], CD31), стволовых (CD34, c-kit, Sca-1) и мезенхимальных клеток (CD105, CD90). При этом остается неизвестным какой из этих типов клеток отвечает за наблюдаемые положительные эффекты. В исследовании CADECEUS 98% КПК были положительными по CD105 антигену, что свидетельствовало о мезенхимальной природе явлений [13]. В недавнем исследовании сравнивалась безопасность и эффективность интрамиокардиального введения кардиосфер и КПК в свинью модель ОИМ. Хотя эффективность воздействия кардиосфер

и КПК на ФВЛЖ была эквивалентна, впоследствии наблюдалось улучшение региональной гемодинамики и функции, а также уменьшение ремоделирования ЛЖ [11]. Повышенная активность кардиосфер в области сердечной регенерации была объяснена стволовой природой и взаимодействием клетка-матрица.

Таким образом, многие детали, направленные на восстановление деятельности сердца при пересадке клеток, не установлены. При этом можно с определенной долей уверенности полагать, что имплантированные клетки будут выполнять опорную функцию, ограничивая постинфарктное ремоделирование сердца, а собственная сократительная способность имплантированных клеток может улучшить систолическую функцию. Секреция факторов роста или ангиогенеза имплантированными клетками улучшит функцию шунта и стимулирует сократительную функцию после коронарного шунтирования [14].

В целом, несмотря на стремительный прогресс, многие принципиальные вопросы терапии стволовыми клетками при СН остаются нерешенными и на сегодняшний день нет убедительных данных доказывающих ее эффективность, что требует дополнительных исследований и наблюдений.

## Литература

1. Козлов, К.Л. Хирургическое лечение ишемической болезни сердца у пациентов пожилого и старческого возраста / К.Л. Козлов [и др.]. – М.: РАМН. – 2007. – 348 с.
2. Тепляков, А.Т. Результаты 3-летнего проспективного наблюдения за больными с хронической сердечной недостаточностью после трансплантации мононуклеарных клеток костного мозга / А.Т. Тепляков, [и др.] // Сиб. мед. журн. – 2012. – №1. – С.32–39.
3. Assmus, B. Transcoronary transplantation of functionally competent bmcs is associated with a decrease in natriuretic peptide serum levels and improved survival of patients with chronic postinfarction heart failure: Results of the topcare-chd registry / B. Assmus // *Circ. Res.* – 2007. – Vol. 100. – P. 1234–1241.
4. Bearzi, C. Human cardiac stem cells / C. Bearzi [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 2007. – Vol.104. – P. 14068–14073.
5. Beltrami, A.P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration / A.P. Beltrami [et al.] // *Cell.* – 2003. – Vol.114. – P. 763–776.
6. Bolli, R. Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (scipio): Initial results of a randomised phase 1 trial / R. Bolli [et al.] // *Lancet.* – 2011. – Vol. 378. – P. 1847–1857.
7. Cohen, I.G. Human embryonic stem-cell research under siege: battle won but not the war / I.G. Cohen, E.Y. Adashi // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 364. P. – 48.
8. Duckers, H.J. Final results of a phase iia, randomised, open-label trial to evaluate the percutaneous intramyocardial transplantation of autologous skeletal myoblasts in congestive heart failure patients: The seismic trial / A.C. Diederichsen [et al.] // *EuroIntervention.* – 2011. – Vol. 6. – P. 805–812.
9. Hare, J.M. Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: The poseidon randomized trial / J.M. Hare, J.E. Fishman, G. Gerstenblith // *JAMA: the journal of the American Medical Association.* – 2012. – Vol. 308. – P. 2369–2379.
10. Johnston, P.V. Engraftment, differentiation, and functional benefits of autologous cardiosphere-derived cells in porcine ischemic cardiomyopathy / P.V. Johnston [et al.] // *Circulation.* – 2009. – Vol. 120. – P. 1075–1083.
11. Lee, S.T. Intramyocardial injection of autologous cardiospheres or cardiosphere-derived cells preserves function and minimizes adverse ventricular remodeling in pigs with heart failure post-myocardial infarction / S.T. Lee [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2011. – Vol. 57. – P. 455–465.
12. Leri, A. Role of cardiac stem cells in cardiac pathophysiology: A paradigm shift in human myocardial biology / A. Leri, J. Kajstura // *Circ. Res.* – 2011. – Vol.109. – P. 941–961.
13. Makkar, R.R. Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (caduceus): A prospective, randomised phase 1 trial / R.R. Makkar [et al.] // *Lancet.* – 2012. – Vol. 379. – P. 895–904.
14. Menasche, P. Myoblast transplantation for heart failure / P. Menasche, A.A. Hagege, M. Scorsin // *Lancet.* – 2001. – Vol. 357. – P. 279–280.
15. Menasche, P. The myoblast autologous grafting in ischemic cardiomyopathy (magic) trial: First randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation / P. Menasche [et al.] // *Circulation.* – 2008. Vol. – 117. – P. 1189–1200.
16. Messina, E. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart / E. Messina [et al.] // *Circ. Res.* – 2004. – Vol. 95. – P. 911–921.
17. Miyahara, Y. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction / Y. Miyahara [et al.] // *Nat. Med.* – 2006. – Vol. 12. – P. 459–465.
18. Perin, E.C. A randomized study of transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells and cell function analysis in ischemic heart failure (focus-hf) / E.C. Perin [et al.] // *Am. Heart J.* – 2011. – Vol.161. – P.1078–1087.
19. Perin, E.C. Randomized, double-blind pilot study of transendocardial injection of autologous aldehyde dehydrogenase-bright stem cells in patients with ischemic heart failure / E.C. Perin [et al.] // *Am. Heart J.* – 2012. – Vol. 163. – P. 415–421.
20. Povsic, T.J. A double-blind, randomized, controlled, multicenter study to assess the safety and cardiovascular effects of skeletal myoblast implantation by catheter delivery in patients with chronic heart failure after myocardial infarction / T.J. Povsic [et al.] // *Am. Heart J.* – 2011. – Vol.162. – P. 654–662.
21. Riggs, J.W. Induced pluripotency and oncogenic transformation are related processes / J.W. Riggs, B.L. Barrilleaux, N. Varlakhanova // *Stem. Cells. Dev.* – 2013. – Vol. 22. – P. 37–50.
22. Rota, M. Local activation or implantation of cardiac progenitor cells rescues scarred infarcted myocardium improving cardiac function / M. Rota [et al.] // *Circ. Res.* – 2008. – Vol. 103. – P.107–116.
23. Smith, R.R. Regenerative potential of cardiosphere-derived cells expanded from percutaneous endomyocardial biopsy specimens / R.R. Smith [et al.] // *Circulation.* – 2007. – Vol. 115. – P. 896–908.
24. Stamm, C. Intramyocardial delivery of cd133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: Safety and efficacy studies / C. Stamm [et al.] // *J.Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2007. – Vol. 133. – P. 717–725.
25. Takahashi, K. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors / K. Takahashi, S. Yamanaka // *Cell.* – 2006. – Vol. 126. – P. 663–676.
26. Tang, X.L. Intracoronary administration of cardiac progenitor cells alleviates left ventricular dysfunction in rats with a 30-day-old infarction / X.L. Tang [et al.] // *Circulation.* – 2010. – Vol. 121. – P. 293–305.
27. Orlic, D. Stem cells for myocardial regeneration / D. Orlic, J.M. Hill, A.E. Arai // *Circ. Res.* – 2002. – Vol. 91. – P. 1092–1102.
28. Veltman, C.E. Four-year follow-up of treatment with intramyocardial skeletal myoblasts injection in patients with ischaemic cardiomyopathy / C. E. Veltman [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2008. – Vol. 29. – P. 1386–1396.

29. Wang, L. Adipose-derived stem cells are an effective cell candidate for treatment of heart failure: Anmr imaging study of rat hearts / L. Wang [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2009. – Vol. 297. – P. 1020–1031.
30. Yao, K. Administration of intracoronary bone marrow mononuclear cells on chronic myocardial infarction improves diastolic function / K. Yao [et al.] // Heart. – 2008. – Vol. 94. – P. 1147–1153.

---

G.G. Khubulava, K.L. Kozlov, V.N. Kravchuk, A.N. Shishkevich, S.S. Mikhailov, N.G. Lukjanov

### Directions of cell therapy in the treatment of heart failure

**Abstract.** *Despite the substantial progress prognosis of therapy in patients with heart failure remains very unfavorable. This is primarily due to the fact that the treatment is palliative in nature and do not address the underlying cause of the disease – the loss of cardiac tissue. Cell therapy using stem cells solves this problem and makes it possible to some extent to achieve myocardial regeneration. Thus able to eliminate the cause of heart failure. Since the first report of the cell therapy of heart failure with the use of skeletal myoblasts in 1998 and until today we conducted a large number of studies that confirm the ability of different stem cell populations to improve myocardial function and reduce myocardial infarction zone in the treatment of both ischemic and non-ischemic cardiomyopathy. Just opened myocardial ability to self-renew by the regional (heart) stem cells that gave a new impetus in the cell therapy of heart failure development. Also developed several methods of delivery of stem cells into the myocardium that allows more flexibility for cell therapy. Many important issues, such as the mechanism of action of stem cells, their duration of engraftment, the most appropriate type, volume, delivery methods and frequency remain. Up to now there is no convincing evidence of the efficiency of the use of stem cells.*

**Key words:** *stem cells, myocardial infarction, congestive heart failure, myocardial regeneration, cell transplantation, cell therapy, left ventricular remodeling, cardiac myocytes.*

Контактный телефон: 8-951-675-1915; e-mail: mikhailov.vma@gmail.com