

УДК 616.1/2

## ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В КАРДИОЛОГИИ И КАРДИОХИРУРГИИ

**Сергей Валентинович ПОПОВ, Вячеслав Валерьевич РЯБОВ, Татьяна Евгеньевна СУСЛОВА, Марина Александровна ШТАТОЛКИНА, Жаннетта Владимировна ВЕСНИНА, Александр Любомирович КРЫЛОВ, Сергей Александрович АФАНАСЬЕВ, Валентин Алексеевич МАРКОВ, Ростислав Сергеевич КАРПОВ**

*ГУ НИИ кардиологии Томского научного центра СО РАМН  
634012, Томск, ул. Киевская, 111-а*

---

В статье обобщены современные представления и возможности клеточных технологий в кардиологии и кардиохирургии. Обобщены и проанализированы результаты клинических исследований, касающихся возможности участия стволовых клеток костного мозга в регенерации миокарда. Представлены результаты собственных клинических исследований, посвященных изучению переносимости, безопасности и эффективности разных способов доставки аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга к поврежденному миокарду при остром инфаркте миокарда.

---

**Ключевые слова:** стволовые клетки, клеточная терапия; регенерация миокарда.

---

Все клеточные технологии в кардиологии принято объединять термином «клеточная кардиомиопластика» [1-5], поскольку все методики клеточной терапии в кардиологии, будь это пересадка в миокард кардиомиоцитов, гладкомышечных клеток, генмодифицированных клеток (фибробласты, скелетные миоциты), стволовых клеток костного мозга (СККМ) или целенаправленная экспрессия регуляторных генов клеточного цикла кардиомиоцитов (КМЦ) и другие высокотехнологичные методы клеточной терапии, призваны изменить процессы структурно-функциональной перестройки миокарда (ремоделирования сердца) и, в конечном счете, улучшить его функцию.

Внедрение в клиническую практику различных методов и режимов экстренной реперфузии миокарда у больных острым инфарктом

миокарда (ОИМ) позволили существенно снизить госпитальную и отдаленную летальность. В то же время признается факт, что ОИМ по-прежнему занимает первое место среди причин развития хронической сердечной недостаточности (ХСН) [6-8]. Кроме того, последние данные свидетельствуют и о том, что современные методики экстренной реперфузии миокарда (тромболизис, экстренная баллонная ангиопластика) полностью реализовали свой потенциал по ограничению размера некроза и улучшению функции миокарда, снижению смертности [9-11]. В связи с этим разработка способов и изучение возможностей различных методов регенерационной терапии с целью стимуляции развития новых КМЦ и неоангиогенеза является актуальной клинической проблемой.

Отсутствие репродуктивной способности

---

*Попов С.В. — зам. директора на научной и клинической работе, руководитель отделения хирургических методов лечения нарушений сердечного ритма*

*Рябов В.В. — старший научный сотрудник отделения неотложной кардиологии*

*Суслова Т.Е. — ведущий научный сотрудник отделения функциональных и лабораторных методов исследования*

*Штатолкина М.А. — кардиолог отделения неотложной кардиологии*

*Веснина Ж.В. — научный сотрудник отделения радиоизотопных методов обследования*

*Крылов А.Л. — старший научный сотрудник отделения рентгенохирургических методов лечения и обследования*

*Афанасьев С.А. — руководитель лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики*

*Марков В.А. — руководитель отделения неотложной кардиологии*

*Карпов Р.С. — директор института*

КМЦ взрослых млекопитающих давно стало общепризнанным фактом [12]. Считалось, что если возникло повреждение сердечной мышцы, то оно необратимо и проявляется ремоделированием сердца, заканчиваясь развитием ХСН [13,14]. Полагали, что увеличение массы миокарда у взрослых связано лишь с увеличением размеров КМЦ, а не их числа [15]. Вместе с тем если это так, то выводом из постулата об отсутствии митотической активности КМЦ должно быть предположение о том, что КМЦ бессмертны, поскольку ни один человек, дожив даже до 100 лет, не умирает без сердца [16]. Ситуация изменилась в конце прошлого столетия, когда были разработаны методы количественного определения некроза и апоптоза КМЦ [5]. Стало ясно, что в КМЦ происходит репликация ДНК и кариокинез [5, 17]. Однако большинство исследователей считало, что деления цитоплазмы КМЦ не происходит, поэтому, по мере старения организма, увеличивается количество многоядерных, гипертрофированных КМЦ. Однако G. Olivetti и соавт. показали, что в клетках миокарда происходит не только кариокинез, но и цитокинез [18].

Справедливым будет отметить, что и ранее не все исследователи были согласны с догмой о том, что все КМЦ являются терминально дифференцированными. Так, немецкий морфолог A. J. Linzbach еще в 40-х и 50-х годах прошлого века считал, что утолщение стенок миокарда у человека происходит в результате не только гипертрофии, но и гиперплазии КМЦ [19]. P. Anversa с соавт. изучали структуру миокарда у пациентов с аортальным стенозом и показали, что увеличение массы миокарда при стенозе аорты обусловлено сочетанием гипертрофии и гиперплазии КМЦ. Содержание стволовых клеток (СК) было в 13 раз выше у лиц с аортальным стенозом, чем в контрольной группе. Еще более впечатляющие результаты были получены исследователями на аутопсийном материале 13 пациентов, погибших на 4 – 12-й день после ИМ [20]. Выявленная в этом случае митотическая активность КМЦ в пограничной зоне ИМ была увеличена в 70 раз [20]. Определение маркера репликации ДНК белка Ki-67 показало, что около 4% КМЦ перинфарктной зоны экспрессируют этот белок [20]. К сожалению, в реальной жизни полной регенерации миокарда человека после ИМ никогда не наблюдается, очевидно, по причине высокой пролиферативной активности фибробластов в зоне некроза и неспособности КМЦ активно делиться в усло-

виях гипоксии, которая имеет место в очаге некроза. Кроме того, еще в 1965 г. В. И. Полежаевым и соавт. показано, что в очаге некроза под влиянием биомодуляторов и ингибиторов рубцевания появлялись клетки, которые морфологически идентифицировались как слабо-дифференцированные миобласты [21]. Но разрешающие возможности медицинских приборов того времени не позволили убедительно доказать эти факты [22].

Поскольку основой развития и прогрессирования ХСН является утрата КМЦ, то исследователи попытались пересаживать в инфарктированный миокард КМЦ [23]. Эксперименты показали, что трансплантация этих клеток на 14-й день ИМ предупреждает его истончение и дилатацию левого желудочка (ЛЖ) [23]. Одновременно улучшается насосная функция сердца. Однако многие пересаженные клетки сохраняли эмбриональный фенотип даже через 2 месяца после аллотрансплантации. Кроме того, многие из них были изолированы от миокарда хозяина рубцовой тканью и, следовательно, не могли сокращаться синхронно с остальным миокардом; значительная часть пересаженных клеток погибает в зоне ишемии [4, 5]. Как и всякая другая аллотрансплантация, успешная пересадка фетальных КМЦ требует иммуносупрессии, что, конечно же, не делает этот способ регенерации миокарда методом выбора. Таким образом, при трансплантации КМЦ возникают трудности с забором материала и его обработкой, успех пересадки КМЦ в миокард определяется возможностью их взаимодействия с мышечными клетками реципиента и их окружения. При пересадке же КМЦ в рубец изоляция трансплантированных клеток в рубцовой ткани не позволяет надеяться на возможность участия пересаженных клеток в систоле миокарда реципиента [5, 24]. Вариант с пересадкой КМЦ в пограничную зону ИМ можно считать более перспективным в отношении образования клеточных контактов между КМЦ донора и реципиента [24]. Однако в некоторых экспериментальных работах фетальные КМЦ не приживались, что не позволяло наблюдать улучшения функциональных показателей миокарда. И если указанные проблемы пытаются решить в эксперименте, и надо сказать не безуспешно, то трансплантация КМЦ в клинику пока остается делом будущего.

Другая группа исследователей полагает, что миобласты скелетных мышц — наиболее перспективная популяция клеток, которые могут

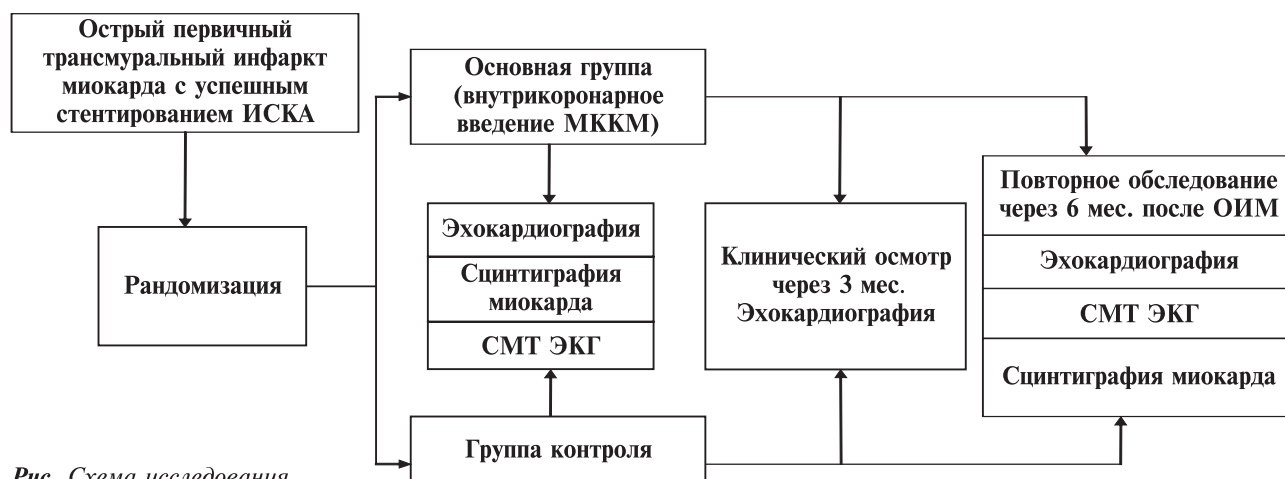


Рис. Схема исследования

использоваться при клеточной кардиомиопластике [4, 5, 25]. Эти клетки отличаются высоким пролиферативным потенциалом и устойчивостью к ишемии, они способны сокращаться. Идея пересаживать в миокард миообласти поперечнополосатых мышц не нова, поскольку в клинике уже много лет используется операция кардиомиопластики. Вместе с тем она не является общепризнанной, эффективность операции не доказана в многоцентровых исследованиях, технически сложна, чревата осложнениями и высокой летальностью и эффективна далеко не у всех пациентов. Поэтому исследователи попытались пересаживать клетки, выделенные из скелетных мышц. Улучшение сократимости сердца было обнаружено после имплантации в инфарктированный миокард крыс единичных мышечных волокон скелетных мышц [26]. Несколько независимых коллективов установили, что имплантация в инфарктированный миокард аутологических миообластов приводит к улучшению систолической и диастолической функции ЛЖ, одновременно уменьшается постинфарктная дилатация. Вместе с тем высказывается мнение и о том, что использование миообластов для замещения погибших КМЦ, видимо, не очень перспективный вид лечения [27]. Таким образом, современные исследования не позволяют однозначно судить о том, дифференцируются ли миообласти в миокарде реципиента в КМЦ и образуются ли при этом контакты между КМЦ реципиента и миообластами донора. Кроме того, миообласти из-за крупных размеров потенциально эмболоопасны [24,27].

Предполагается, что поскольку гладкомышечные клетки являются дифференцирован-

ными и не обладают выраженной пролиферативной активностью, они не могут быть использованы в качестве материала для восстановления количества КМЦ, в лучшем случае они могут оказать благоприятный эффект на ремоделирование миокарда за счет предполагаемого паракринного эффекта [4, 24].

Резюмируя вышеизложенное, можно отметить, что специфика данных исследований не позволяет получить однозначных результатов, существует большой разброс внутригрупповых показателей при изучении функции сердца после клеточной кардиомиопластики. Поэтому с одной стороны признается факт, что эффект от введения клеток при экспериментальном ИМ есть, но в то же время хотелось бы получить большего. В изученной литературе отсутствует однозначный ответ на вопрос, какой же тип клеток лучше использовать для более эффективного восстановления функции миокарда после ОИМ. Вместе с тем очевидно, что предпочтение должно отдаваться аутологичному материалу, методы доставки клеток должны быть минимально инвазивными и в то же время обеспечивающими их проникновение и выживание в миокарде реципиента.

Одно из наиболее обсуждаемых направлений клеточной трансплантологии сегодня — это пересадка собственных СККМ. Будучи мультипотентными, постнатальные СК составляют существенный восстановительный резерв в организме и способствуют замещению дефектов, возникающих в силу тех или иных обстоятельств. Предполагается, что региональные СК являются первой линией защиты при повреждении ткани, а когда их недостаточно, в процесс репарации заживления включаются циркули-

Таблица 1

Основные клинико-демографические показатели больных;  $M \pm SD$ , n (%)

Показатели	Основная группа	Контрольная группа	Значение p
Количество больных	28	34	
Средний возраст	55,3 $\pm$ 8,2	52,8 $\pm$ 8,5	НД
Количество мужчин	25 (89)	27 (79)	НД
Среднее время реканализации ИСКА, ч	6,7 $\pm$ 4,5	9,0 $\pm$ 12,6	НД
Передний инфаркт миокарда	23 (82)	24 (71)	НД
Распределение больных в зависимости от ИСКА ПНА/ПКА/ОА	22(79)/4(14)/2(7)	24(71)/7(21)/3(8)	НД
Количество больных в зависимости от степени поражения коронарного русла 1-/2-/3-сосудистое поражение	3(11)/18(64)/6(21)	13(38)/15(44)/6(18)	НД
QRS индекс, % поражения левого желудочка	9,5 $\pm$ 4,5	7,3 $\pm$ 3,7	0,04
Количество выделенных МККМ, 106	120,5 $\pm$ 49,2		
Признаки острой сердечной недостаточности по Т. Killip I /II /III /IV ФК	11(39)/11(39)/4(14)/2(7)	15(44)/14(42)/5(15)/-	НД
Предынфарктная стенокардия	13(46)	18(53)	НД

НД – отличие не достоверно.

ПНА, ПКА, ОА – правая, передняя нисходящая, огибающая коронарные артерии.

рующие СК костного мозга в результате так называемого хоуминг-эффекта. Это справедливо и для таких, ранее считавшихся постмитотическими, органов, как сердце и головной мозг. Предполагается, что это происходит по двум и более сценариям. Первая гипотеза состоит в следующем – СК постоянно циркулируют в крови и при повреждении ткани инфильтрируют ее. По второму варианту события развиваются таким образом, что в результате повреждения органа, например, развитии ИМ, освобождаются специальные сигнальные молекулы, которые вызывают мобилизацию СК в периферической крови, которые впоследствии и проникают в поврежденную ткань [28]. Вместе с тем вопрос о том, могут ли циркулирующие в крови СККМ мигрировать в миокард и дифференцироваться в КМЦ, активно обсуждается в настоящее время. И здесь мнения расходятся от полного отрицания этой возможности до утверждения о том, что эти СК могут играть важную роль в регенерации миокарда.

Несомненно, важными представляются результаты работы, продемонстрировавшей

дифференцировку СК костного мозга в КМЦ, эндотелиоциты, гладкомышечные клетки. В модели ИМ мышам-самкам вводили СК костного мозга фенотипа Lin<sup>-</sup>c-kit<sup>+</sup> (признак стволовости) мышей-самцов, которые предварительно были помечены зеленым флуоресцирующим белком по Y-хромосоме. Через 9 дней была выявлена регенерация миокарда и сосудов с полоской Y позитивных клеток [28]. При этом у мышей, которым вводили Lin<sup>-</sup>c-kit<sup>-</sup> (не стволовые) клетки костного мозга, регенерации не обнаружили.

Концепция регенеративной терапии получила свое развитие благодаря тому, что J. Kajstura и P. Anversa [29] обнаружили явление, которое назвали химеризмом сердца. Исследование проводилось на аутопсийном материале, полученном от 8 пациентов-мужчин, которым было пересажено сердце женщин-доноров [29]. Оказалось, что в пересаженных женских сердцах 18% кардиомиоцитов, 20% артериол и 14% капилляров содержат Y-хромосому. Эти клетки не содержали специфических антигенных маркеров, характерных для миелоидных,



Таблица 2

Клинические события в течение 6 месяцев после ИМ;  $M \pm SD$ , n (%)

Конечная точка	Основная группа	Контрольная группа	Значение p
Смерть	2 (7)	0	НД
Повторный ИМ	2 (8)	2 (6)	НД
Нестабильная стенокардия	3(12)	2 (6)	НД
Стабильная стенокардия	11(42)	12(38)	НД
Рестеноз ИСКА	4 (33) n=12	7 (32) n=22	НД
Злокачественные аритмии	3(12)	1(3)	НД
ХСН 6 мес., ФК I/II/III/IV	21(81)/4(15)/1(4)/-	27(84)/3(9)/2(6)/-	НД
Тест 6-минутной ходьбы через 6 мес.; м	543 $\pm$ 119	569 $\pm$ 145	НД
Качество жизни 6 мес., баллы	26 $\pm$ 21	17 $\pm$ 14	НД

НД – отличие не достоверно.

лимфоидных и эритроидных клеток, поэтому появление в миокарде клеток, имеющих Y-хромосому, нельзя было объяснить методической погрешностью, реакцией отторжения и лейкоцитарной инфильтрацией [29]. Интенсивность пролиферации оценивали по количеству клеток, экспрессирующих белок Ki-67. Оказалось, что 17% клеток мужского происхождения, содержат этот белок, в то время как только у 1% донорских клеток удастся выявить этот маркер пролиферации [29]. Этот факт позволил авторам сделать вывод, что клетки реципиента активно пролиферируют в донорском сердце. Они предположили, что дифференцированные клетки сердца, имеющие Y-хромосому, являются потомками СК реципиента, которые мигрировали из кровотока в миокард [29]. Наиболее простым и логичным объяснением химеризма миокарда, по мнению авторов работы, является миграция в миокард циркулирующих в крови СК костного мозга.

Может ли подобная миграция аутологичных СК происходить при ИМ, и могут ли эти клетки включаться в постинфарктную регенерацию миокарда? Утвердительный ответ на этот вопрос получили в своей работе D. Orlic и соавт. [28]. Однако остался открытым вопрос о механизме регенеративного эффекта СК костного мозга: связан он с дифференцировкой клеток в КМЦ и сосуды или же подобное благотворное действие СК является результатом секреции ими каких-то ростовых факторов, стимулирующих пролиферацию собственных СК миокарда, КМЦ и неоваскулогенез?

Одним из самых привлекательных источников клеточного материала для клеточной терапии являются так называемые нефракционированные клетки костного мозга, под которыми подразумеваются все ядродержащие клетки (главным образом мононуклеарные) после удаления эритроцитов и тромбоцитов. Основными преимуществами этого источника клеток для кардиомиопластики служат:

Хорошие теоретические предпосылки: так, костный мозг содержит едва ли не самое большое количество различных фракций стволовых и прогениторных клеток взрослого человека (клетки гемопоэтического ряда, стромальные стволовые клетки, эндотелиальные прогениторы), все эти клетки суммарно присутствуют в мононуклеарной фракции костного мозга;

Отсутствие этических проблем при использовании аутологичного материала;

Сравнительно несложные технологии получения и процессинга, невысокие финансовые затраты.

Несмотря на то, что многие вопросы, касающиеся клеточной терапии ИМ, не закрыты в ходе экспериментальных работ, клиницисты быстро загорелись идеей клеточной терапии. В настоящее время опубликованы результаты более 30 пилотных, так называемых I-II фазы, клинических исследований. Ключевым вопросом в них был вопрос безопасности и эффективности применения клеточных технологий в клинике, при разных способах доставки клеточного материала. И если практически во

Таблица 3

Характер экстракардиального распределения меченных аутологичных МККМ после интракоронарного введения;  $M \pm SD$ , n (%)

Время после введения	Интенсивность накопления $^{99m}\text{Tc}$ -НМРАО-моноклеаров в органах (в % от общей активности)			
	легкие	печень	селезенка	костный мозг
30 мин	14,4 $\pm$ 3,7	29,3 $\pm$ 4,2	7,0 $\pm$ 1,4	3,6 $\pm$ 0,8
2,5 ч	9,6 $\pm$ 1,5	25,5 $\pm$ 3,8	14,1 $\pm$ 2,1	4,6 $\pm$ 1,1
24 ч	5,3 $\pm$ 1,1	22,4 $\pm$ 3,3	7,4 $\pm$ 1,9	7,2 $\pm$ 1,2

всех исследованиях авторы констатируют безопасность предлагаемых методик, то об их эффективности судить сложно. В большинстве своем исследования не рандомизированы, с участием небольшого количества больных, об их эффективности предлагается судить по изменению показателей функции сердца, без морфологических доказательств неокардиомио- и васкулогенеза. В исследованиях оценивали безопасность трёх способов доставки клеточного материала к поврежденному миокарду: внутрикоронарного, когда клеточную взвесь вводят через установленный в коронарную артерию катетер, трансэндокардиального и во время основных этапов операций на открытом сердце.

Справедливости ради надо сказать, что выполнены и хорошо спланированные рандомизированные исследования, на которых хотелось бы остановиться. Обобщая результаты этих работ, необходимо отметить, в них приняло участие около 1000 больных. И по результатам оценки конечных точек среди авторов и экспертов по-прежнему нет единого мнения. Более того, наступило время, когда безусловная эффективность этого метода лечения стала подвергаться сомнению. Так, ранее сообщалось, что через 6 месяцев у больных в исследовании BOOST, рандомизированных в группу трансплантации СККМ, был отмечен больший, чем в контроле, прирост фракции выброса (ФВ) ЛЖ. В контрольной группе через 18 месяцев произошло улучшение фракции выброса и это привело к тому, что разница в изменении показателя между группами вмешательства и контроля исчезла. Вместе с тем в контрольной группе зарегистрировано прогрессирование нарушения диастолической функции.

В исследование ASTAMI включен 101 больной с передним ИМ. К интракоронарному введению аутологичных моноклеарных клеток костного мозга (МККМ) рандомизированы 52, только к обычному лечению — 49. Ни один

из примененных методов, оценивающих функцию сердца, не выявил достоверных различий между группами.

В REPAIR-AMI включались больные ИМ (n=204) независимо от локализации, подвергнутые в остром периоде первичному чрескожному коронарному вмешательству с имплантацией стента. Для оценки результата применялась рентгеноконтрастная вентрикулография. Первичной конечной точкой испытания было абсолютное изменение фракции выброса ЛЖ через 4 месяца. Это изменение оказалось большим (+5,5%) в группе вмешательства, чем в группе плацебо (+3%). При анализе подгрупп оказалось, что увеличение фракции выброса было более выраженным у больных с меньшей фракцией выброса и после процедур, выполненных позже 5-х суток ИМ.

Недавно опубликованы результаты исследования, в котором подтверждено наличие взаимосвязи между концентрацией CD34 клеток костного мозга после ИМ и фракцией выброса ЛЖ, индексом нарушения локальной сократимости и конечным систолическим и конечным диастолическим объемами ЛЖ. Установлена положительная связь между величиной прироста ФВ ЛЖ и количеством стволовых клеток костного мозга и отрицательная связь величин объемов ЛЖ и индекса нарушения локальной сократимости с количеством СККМ.

Вместе с тем результаты испытания REVIVAL-2 демонстрируют иное. В испытание включены 114 больных острым ИМ, у которых в первые 12 часов ИМ выполнено чрескожное коронарное вмешательство, приведшее к восстановлению кровотока. Введение G-CSF (в дозе 10 мкг/кг/сут подкожно) или плацебо осуществлялось в течение 5 дней. Через 6 месяцев больных подвергали обследованию с использованием магнитнорезонансной и однофотонной эмиссионной позитронной томографии, а также коронарной ангиографии. Пер-

Таблица 4

Динамика конечного диастолического индекса левого желудочка после острого инфаркта миокарда;  $M \pm SD$ , n(%)

Показатели	Основная группа	Контрольная группа	Значение p
Конечный диастолический индекс левого желудочка, мл/(кг х м <sup>2</sup> )			
исходно	59,0 $\pm$ 12,0	54,3 $\pm$ 15,3	НД
3 месяца	63,7 $\pm$ 14,8	60,0 $\pm$ 17,8*	НД
6 месяцев	64,8 $\pm$ 17,0	60,0 $\pm$ 16,2**	НД
Процент прироста конечного диастолического индекса левого желудочка			
3 месяца, %	9,6 $\pm$ 22,3	11,2 $\pm$ 19,6	НД
6 месяцев, %	11,8 $\pm$ 28,1	13,2 $\pm$ 24,6	НД
Прирост КДИ ЛЖ более 10% к 6-му месяцу	10(43)	13(45)	НД

НД — отличие не достоверно; \* — внутригрупповые различия достоверны при  $p < 0,05$  между исходным исследованием и проведенным через 3 месяца; \*\* — между исходным и проведенным через 6 месяцев.

вичной конечной точкой испытания было уменьшение ИМ, оцененное как разница между его исходным размером и размером через 6 месяцев по данным в однофотонной эмиссионной позитронной томографии. Вторичными конечными точками были изменения ФВ ЛЖ (по данным магнитного резонанса) и возникновение рестеноза. Не выявлено влияние терапии на величину размера ИМ, на величину ФВ ЛЖ. Согласно информации сайта theheart.org руководитель проекта заявила, что она и ее сотрудники больше не будут изучать этот подход к лечению ИМ.

Нами выполнено открытое контролируемое исследование, в которое после получения информированного согласия включено 62 больных. Диагноз ОИМ устанавливали на основе критериев ВОЗ. Критериями включения в исследование были: возраст до 75 лет, наличие трансмурального поражения миокарда левого желудочка. Кроме эндоваскулярного вмешательства, всем больным была назначена медикаментозная терапия, включающая аспирин, плавикс, статины, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и блокаторы бета-адренорецепторов в подобранных дозировках. Схема исследования представлена на рисунке. Клеточную кардиомиопластику выполняли во время ангиографии, на 7–21-й день заболевания. В случае если больному не выполняли первичную баллонную ангиопластику, стентирование места сужения проводили в указанные сроки. Пациентам контрольной группы выполняли только стентирование коронарной

артерии. В стационаре, кроме общеклинического обследования, выполняли серийную регистрацию ЭКГ, определяли размер инфаркта миокарда методом подсчета индекса QRS в 12 стандартных отведениях ЭКГ по Selvester code. Толерантность к физическим нагрузкам определяли с помощью теста 6-минутной ходьбы. Эхокардиографию выполняли по стандартной методике до трансплантации клеток, а также через 3 и 6 месяцев после ОИМ на ультразвуковой системе «GE VIVID 7», expert. Для изучения влияния клеточной терапии на миокардиальную перфузию выполнена нагрузочная сцинтиграфия миокарда с таллием-199 до и через 6 месяцев после проведения трансплантации клеток. Кроме того, для изучения распределения моноклеарных клеток костного мозга (МККМ) в организме больного после внутрикоронарного введения выполняли их радионуклидную индикацию препаратом «Ceretic» (<sup>99m</sup>Tc-НМРАО).

Основные клинико-демографические показатели представлены в табл. 1. Следует отметить, что по параметрам, определяющим ближайший и отдаленный прогноз заболевания, группы пациентов были сопоставимы. Все больные прошли 6-месячный период наблюдения. Процедуры, связанные с протоколом исследования, переносились хорошо, не зарегистрировано осложнений как во время забора аспирата костного мозга, так и во время и после введения МККМ в инфаркт-связанную коронарную артерию (ИСКА). При проведении анализа частоты летальных исходов, повторных ИМ, ресте-

Таблица 5

Изменение некоторых параметров сократительной функции желудочка после острого инфаркта миокарда;  $M \pm SD$ , n(%)

Показатели	Основная группа	Контрольная группа	Значение p
Конечный систолический индекс левого желудочка, мл/(кг х м <sup>2</sup> )			
исходно	29,9±9,6	26,6±10,2	НД
3 месяца	31,3±11,9	29,1±12,1	НД
6 месяцев	29,9±11,2	29,6±13,8	НД
% прироста, 3-й месяц	7,2±27,7	10,6±32,9	НД
% прироста, 6-й месяц	2,4±31,1	12,5±39,3	НД
Фракция выброса левого желудочка, %			
исходно	47,9±11,3	51,5±8,1	НД
3 месяца	51,7±6,7	52,8±10,5	НД
6 месяцев	53,7±9,2	52,6±11,3	НД
% прироста, 3-й месяц	12,6±23,8	2,9±14,3	НД
% прироста, 6-й месяц	16,7±26,4	2,9±18,4	НД
Индекс нарушения локальной сократимости левого желудочка, усл. ед.			
исходно	1,8±0,2	1,8±0,4	НД
3 месяца	1,6±0,3*	1,7±0,4*	НД
6 месяцев	1,6±0,3**	1,7±0,4**	НД
% прироста, 3-й месяц	-9,9±14,0	-5,7±14,7	НД
% прироста, 6-й месяц	-10,2±17,9	-5,2±12,3	НД

НД — отличие не достоверно; \* — внутригрупповые различия достоверны при  $p < 0,05$  между исходным исследованием и проведенным через 3 месяца; \*\* — между исходным и проведенным через 6 месяцев.

ноза ИСКА, злокачественных аритмий, функциональных классов ХСН, качества жизни, толерантности к физическим нагрузкам в течение 6 месяцев после ОИМ достоверных различий между группами выявлено не было (табл. 2).

Различий в жизнеспособности МККМ между меченными <sup>99m</sup>Tc-НМРАО и немеченными МККМ выявлено не было, она составляла в среднем  $96 \pm 4\%$ . Внутрикоронарное введение взвеси клеток обеспечивало их фиксацию в миокарде больных: 7,8% ( $9,4 \times 10^6$ ) клеток через 30 минут, 6,8% ( $8,2 \times 10^6$  клеток) через 2,5 ч и 3,2% ( $3,8 \times 10^6$  клеток) через 24 ч после введения. Особенности экстракардиального распределения МККМ, не адгезированных в миокарде, представлены в табл.3, из которой следует, что наибольшее количество меченных <sup>99m</sup>Tc-НМРАО клеток после интракоронарного введения мигрирует из кровяного русла в печень ( $29,3 \pm 4,2\%$  через 30 минут после введения). Внутривеночный пул остается максимальным

на протяжении всего исследования. С течением времени часть клеток перераспределялась в селезенку ( $14,1 \pm 2,1\%$  через 2,5 ч после введения). В 90% случаев наблюдали повышенную аккумуляцию меченных МККМ в месте пункции подвздошной кости ( $7,2 \pm 1,2\%$  через 24 ч после введения).

По результатам перфузионной сцинтиграфии миокарда, выполненной на ранних сроках после эндоваскулярного лечения и клеточной трансплантации, стойкие дефекты фиксации таллия-199 обнаружены у всех обследованных пациентов. Их размер варьировал от 11,7% до 36,7% (средняя величина —  $27,3 \pm 2,9\%$ ), а локализация соответствовала бассейну ИСКА. Сравнительный анализ результатов перфузионной сцинтиграфии миокарда с таллием-199 показал, что величина стабильного дефекта перфузии миокарда у больных обеих групп к 6-му мес. наблюдения уменьшается, однако у больных основной группы это происходит в



большей степени ( $29 \pm 24\%$  против  $20 \pm 18\%$ ,  $p=0,1$ ).

Динамика конечного диастолического индекса (КДИ) ЛЖ представлена в табл. 4. Объем ЛЖ статистически значимо не изменялся в основной группе в течение 6 месяцев после ИМ. В контрольной группе, напротив, был отмечен рост КДИ ЛЖ через 3 и 6 месяцев после острого ИМ по сравнению с исходными значениями, вместе с тем различий между группами не выявлено. Результаты анализа некоторых параметров сократимости ЛЖ представлены в табл. 5. Значимого изменения конечного систолического индекса (КСИ) ЛЖ в группах через 3 и 6 месяцев после ИМ по сравнению с исходными данными не выявлено, также не было различий между группами.

Таким образом, проведенные нами клинические наблюдения свидетельствуют о том, что интракоронарная инфузия аутологических МККМ больным после ОИМ не оказывает существенного влияния на сократительную функцию сердца, функциональный класс (ФК) ХСН, толерантность к физической нагрузке и качество жизни больных. Вместе с тем, такой метод лечения обеспечивает доставку МККМ в миокард, не провоцирует злокачественных нарушений сердечного ритма и не усугубляет течение ишемической болезни сердца.

Надо отметить, что прежде чем запланировать и выполнить эту работу, мы прошли через непростой период: с одной стороны, восторга от предполагаемых перспектив в отношении лечения острого ИМ, и в то же время сомнений в отношении этих же перспектив. Почему же фибробласты, которые тоже являются производными мезенхимальных СККМ и обладают хорошими пластическими свойствами, не превращаются в КМЦ? Почему МККМ в случае их переноса в миокард будут дифференцироваться в КМЦ? А будут ли МККМ при таких способах переноса задерживаться в миокарде больного, и в каком количестве? Кроме того, известно, что не все, что хорошо в эксперименте, оказывается полезным в клинике. Эти и многочисленные другие, вышеупомянутые, вопросы продолжают беспокоить нас. Видимо, должен пройти еще длительный период накопления и анализа данных, касающихся эффективности клеточной терапии в кардиологии. Вместе с тем надо признать, что мы являемся свидетелями формирования совершенно нового направления в медицине — клеточно-тканевой медицины. И пусть может быть некоторые из направлений явля-

ются тупиковыми, но, несомненно, стремление вперед должно привести к успеху. Очевидно, что будущее за биотехнологическими лабораториями, усилия которых необходимо сосредоточить на поиск оптимальной популяции клеток для их применения в кардиологии. С другой стороны, по нашему мнению, будущее за работами, посвященными изучению механизмов и факторов, регулирующих функцию собственных СК сердца. Прimitивные клетки со свойствами СК присутствуют в миокарде либо в качестве резидентной популяции эмбрионального происхождения, либо в качестве популяции, образовавшейся в циркуляции и постоянно оседающей в ткани. Возможность замены умершего миокарда собственными СК сердца является передовой и, вероятно, главной областью будущих исследований.

#### Литература

1. Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология. М.: БЭБиМ, 1998. 199 с.
2. Repin V.S., Sukhikh G.T. Medical cellular biology. M BEBiM, 1998. 199 p.
3. Koh G.Y., Soonpaa M.H., Klug M.G. et al. Strategies for myocardial repair // J. Interv. Cardiol. 1995. 8 (4): 387-393.
4. Li R.K., Yau T.M., Sakai T. et al. Cell therapy to repair broken hearts // Can. J. Cardiol. 1998. 14: 735-744.
5. Маслов Л.Н., Рябов В.В., Сазонова С.И. Клеточная трансплантация в лечении инфаркта миокарда: проблемы и перспективы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2003. (4): 78-86.
6. Maslov L.N., Ryabov V.V., Sazonova S.I. Cellular transplantation in myocardial infarction treatment: problems and perspectives. // Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov. 2003. (4): 78-86.
7. Маслов Л.Н., Рябов В.В., Сазонова С.И. Регенерация миокарда // Успехи физиологических наук. 2004. (3): 50-60.
8. Maslov L.N., Ryabov V.V., Sazonova S.I. Myocardium regeneration // Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 2004. (3): 50-60.
9. Zannad F., Briancon S., Juilliere Y. et al. Incidence, clinical and etiological features, and outcomes of advanced chronic heart failure: the EPICAL study // J. Am. Coll. Cardiol. 1999. 33:734-742.
10. Teerlink J.R., Goldhaber S.Z., Pfeffer M.A. An overview of contemporary etiologies of congestive heart failure // Am. Heart. J. 1991. 121:1852-1853.
11. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареков В.Ю. и др. Стволовые клетки и их применение для регенерации миокарда // Сердечная недостаточность. 2003. (4):168-173.
12. Belenkov Yu.N., Ageev F.T., Matveev V.Yu. etc. Stem cells and their application to myocardium regeneration // Serdechnaya nedostatochnost'. 2003.

- (4):168-173.
9. Lincoff A.M., Topol E.J. Illusion of reperfusion. Does anyone achieve optimal reperfusion during acute myocardial infarction? // *Circulation*. 1993. 88:1361-1374.
10. Lange R.A., Hillis L.D. Reperfusion Therapy in acute myocardial infarction // *N. Eng. J. Med.* 2003. 346:954-955.
11. Topol E.J. Reperfusion therapy for acute myocardial infarction with fibrinolytic therapy or combination reduced fibrinolytic therapy and platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibition: the GUSTO V randomized trial // *Lancet*. 2001. 357:1905-1914.
12. Kim W.H., Joo C.U., Ku J.H. *et al.* Cell cycle regulators during human atrial development // *Korean J. Intern. Med.* 1998. 13:77-82.
13. Мареев В.Ю., Беленков Ю.Н. Перспективы в лечении хронической сердечной недостаточности // *Сердечная недостаточность*. 2003. (3):109-114.
- Мареєв В.Ю., Белєнков Ю.Н. Perspectives of chronic heard failure treatment // *Serdechnaya nedostatochnost'*. 2003. (3):109-114.
14. Саркисов Д.С. Регенерация и ее клиническое значение. М.: Медицина, 1979. 284 с.
- Sarkisov D.S. Regeneration and its clinical significance. M. Meditsine, 1979. 284 p.
15. Румянцев П.П. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. Л.: Наука, 1982. 288 с.
- Rumyantsev P.P. Cardio myocytes in process of reproduction, differentiation and regeneration. L. Nauka, 1982. 288 p.
16. Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart // *Circ. Res.* 1998. 83. 1-14.
17. Baserga R. The Biology of Cell Reproduction. Cambridge, Mass/London: Harvard University Press, 1985. 452 p.
18. Olivetti G., Cigola E., Macstiri 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. 28:1463-1477.
19. Linzbach A.J. Heart failure from the point of view of quantitative anatomy // *Am. J. Cardiol.* 1960. 5: 370-382.
20. Beltrami A.P., Urbanek K., Kajstura J. *et al.* Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction // *N. Engl. J. Med.* 2001. 344:1750-1757.
21. Полежаев Л.В., Ахабадзе Л.В., Музлаева Н.А. и др. Стимуляция регенерации мышцы сердца. М.: Наука, 1965. 396 с.
- Polezhaev L.V., Akhabadze L.V., Muzlaeva N.A. *et al.* Stimulating of heard muscles regeneration. M.: Nauka, 1965. 396 p.
22. Румянцев П.П. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. Л.: Наука, 1982. 288 с.
- Rumyantsev P.P. Cardio myocytes in processes of reproduction, differentiation and regeneration. L.: Nauka, 1982. 288 p.
23. Etzion S., Battler A., Barbash I.M. *et al.* Influence of embryonic cardiomyocyte transplantation on the progression of heart failure in a rat model of extensive myocardial infarction // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2001. 33: 1321-1330.
24. Потапов И.В., Крашенинников М.Е., Онищенко Н.А. Клеточная кардиомиопластика // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2001. (2): 53-62.
- Potapov I.V., Krashennikov M.E., Onischenko N.A. Cellular cardio myoplasty // *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2001. (2): 53-62.
25. Chiu R.C.J., Zibaitis A., Kao R.L. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation // *Ann. Thorac. Surg.* 1995. 60:12-18.
26. Suzuki K., Murtuza B., Smolenski R.T. Cell transplantation for the treatment of acute myocardial infarction using vascular endothelial growth factor-expressing skeletal myoblasts // *Circulation*. 2001. 104 (12, Suppl. 1). I-207-I-212.
27. Ryden L., Remme W.J. Treatment of congestive heart failure // *Eur. Heart J.* 1999. 20. 867-871.
28. Orlic D., Hill J.M., Arai A.E. Stem cells for myocardial regeneration // *Circ. Res.* 2002. 91: 1092-1102.
29. Quaini F., Urbanek K., Beltrami A.P. *et al.* Chimerism of the transplanted heart // *N. Engl. J. Med.* 2002. 346: 5-15.
30. Казаков А.В., Мюллер П., Бельтрами А.П. и др. Стволовые клетки и регенерация миокарда человека // *Кардиология*. 2005. 11: 65-75.
- Kazakov A.V., Myuller P., Bel'trami A.P. *et al.* Stem cells and regeneration of human myocardium // *Kardiologiya*. 2005. 11: 65-75.

## FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS OF CELLULAR TECHNOLOGIES IN CARDIOLOGY AND CARDIO SURGERY

Sergei Valentinovich POPOV, Vyacheslav Valerevich RYABOV, Tatyana Evgen'evna SUSLOVA, Marina Aleksandrovna SHTATOLKINA, Gannetta Vladimirovna VESNINA, Aleksandr Lubomirovich KRYLOV, Sergei Aleksandrovich AFANAS'EV, Valentin Alekseevich MARKOV, Rostislav Sergeevich KARPOV

SI RI cardiology Tomsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences  
111-a, Kievskaya str., Tomsk, 634012

A modern representations and opportunities of cellular technologies in cardiology and cardio surgery are summarized in article. Results of the clinical researches concerning an opportunity of participation stem cells in regeneration of a myocardium are summarized and analyzed. Results of own clinical researches devoted to studying of bearableness, safety and efficiency of different ways of delivery autologous mononuclear bone marrow cells to the damaged myocardium in patient with acute myocardial infarction are submitted.

**Key words:** stem cells; cell therapy; regeneration of myocardium.

---

*Popov S.V. — vice-director on scientific and clinical work, head of department of surgical methods of treatment of heart rate disorders*

*Ryabov V.V. — senior researcher of emergency cardiology department*

*Suslova T.E. — leading researcher of department of functional and laboratory methods of researches*

*Shtatolkina M.A. — cardiologist of department of emergency cardiology*

*Vesnina Zh.V. — researcher of department of radioactive tracer methods*

*Krylov A.L. — senior researcher of department of roentgenosurgical methods of treatment and investigation*

*Afanas'ev S.A. — head of laboratory of molecular cellular pathology and genediagnosics*

*Markov V.A. — head of department of emergency cardiology*

*Karpov R. S. — director of the institute*