

ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ТЕРАПИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Губичева Александра Васильевна

студент

Скакун Павел Вадимович

студент

Белорусский государственный медицинский университет
Минск (Беларусь)

Аннотация. Медицина XXI века характеризуется появлением новых методов в терапевтических подходах: на смену традиционным методам лечения приходит клеточная заместительная терапия, основанная на способности стволовых клеток к восстановлению поврежденных в результате болезни или травмы тканей и органов человека. Одной из перспективных областей медицины для применения стволовых клеток является кардиология. Это обусловлено высокой заболеваемостью и смертностью по причине сердечно-сосудистых патологий. Анализ современных подходов к проведению клеточной регенерационной терапии явился предметом нашего изучения.

Ключевые слова: клеточные технологии, ишемическая болезнь сердца.

APPLICATION OF CELLULAR TECHNOLOGIES IN THE THERAPY OF ISCHEMIC HEART DISEASE

Gubicheva Alexandra Vasilievna

student

Skakun Pavel Vadimovich

student

Belarusian State Medical University, Minsk (Belarus)

Abstract. Medicine of the XXI century is characterized by the emergence of new methods in therapeutic approaches: the tradition treatment methods is replaced by cell replacement therapy, based on the ability of stem cells to repair damaged in a result of disease or trauma tissues and organs. One of the promising areas of medicine for the application of stem cells is cardiology. This is due to high morbidity and mortality due to cardiovascular pathologies. Analysis of modern approaches to conducting cellular regeneration therapy was the subject of our research.

Keywords: cellular technology, ischemic heart disease.

Ежегодно в Российской Федерации от хронической сердечной недостаточности (ХСН) умирают от 880 до 986 тыс. человек [1]. Ишемическая болезнь сердца занимает основное место среди заболеваний сердечно-сосудистой системы у взрослых – 46,9 % случаев в 2001 г., среди которых около 3 % приходится на острый инфаркт миокарда (ОИМ). Количество ОИМ на 100 тыс. населения в 2001 г. составило 143,2 человека. В США ежегодно регистрируется 1,1 млн инфарктов миокарда и 400 тыс. человек получают диагноз СН [2]. Поэтому, тот факт, что регенерационная терапия активно укрепляет позиции в мировой медицине, является закономерным.

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – патологическое состояние, характеризующееся абсолютным или относительным нарушением кровоснабжения миокарда вследствие поражения коронарных сосудов. Инфаркт миокарда (ИМ) – острая необратимая ишемия сердечной мышцы. В зоне ишемии в течение 8-10 с происходит гибель кардиомиоцитов, эндотелиоцитов и стромальных элементов вследствие гипоксии [2]. С помощью современных методов исследований удалось доказать присутствие в сердце клеток-предшественников, которые, отвечают за фоновое обновление КМЦ в течение жизни. Также было обнаружено, что зрелые КМЦ могут входить в митотический цикл и делиться (хотя и сравнительно редко). Так осуществляется частичное возмещение популяции КМЦ за счет пролиферации и внутриклеточной регенерации. Интенсивность пролиферации КМЦ может возрастать при различных патологических процессах, в том числе и при ИМ. В перинфарктной зоне миокарда людей, умерших на 4-12-е сутки после ИМ, обнаружили 70-кратное увеличение пролиферативной активности КМЦ, а в межжелудочковой перегородке, удаленной от зоны некроза, – почти 30-кратное. По расчетам поврежденный миокард должен был бы полностью регенерировать за 18 сут. В действительности это не происходит, поскольку КМЦ активно пролиферируют только в перинфарктной области, а не в очаге некроза, где

в это время отмечается активная пролиферация фибробластов, формирующих рубец [2].

Развитие ОИМ происходит по каскадоподобному механизму [3]. Так, после ишемии, некроза миокарда, сопровождающегося выраженным болевым синдромом, происходит активация нервной, гипофизадренальной, иммунной и ретикулоэндотелиальной систем. В поврежденную ткань устремляются нейтрофилы, моноциты и лимфоциты. В результате в зоне инфаркта миокарда изменяется микроокружение. Очевидно, именно в этот период происходит выработка разнообразных ростовых факторов, готовых включить механизмы локальной регенерации в поврежденном миокарде. Однако, в силу того, что кардиомиоциты активно пролиферируют только в периинфарктной области, вместо включения механизмов репаративной регенерации в поврежденной области включается регенерация на уровне гипертрофии миокарда и образуются полиплоидные, с повышенной функциональной активностью клетки, вместо кардиомиогенеза происходит активация стромальных и сосудистых клеток, которые присутствуют в интерстициальном слое между мышечными волокнами и около сосудов. Образующийся дефект необратимо замещается рубцовой тканью, что может привести к развитию разнообразных осложнений, включая и сердечную недостаточность [3].

Теоретически изменить ход необратимых изменений в сердечной ткани при инфаркте миокарда можно, если в каскадоподобный механизм адаптации включить экзогенные стволовые клетки (СК), обладающие миогенным и ангиогенным потенциалом [3]. Так, было отмечено, что для активного участия пересаженных клеток в систоле левого желудочка (ЛЖ) должно соблюдаться несколько условий: клетки должны обладать способностью дифференцироваться в кардиомиоциты, содержать сократительные структуры; между клетками должны присутствовать вставочные диски с щелевыми контактами для проведения потенциалов возбуждения к пересаженным клеткам; должна отсутствовать реакция

отторжения; необходимо свести до минимума ишемические повреждения, некроз и апоптоз пересаженных клеток; пересаженные клетки должны способствовать репарации поврежденного участка (замещение соединительной ткани и формирование полноценной биомеханической архитектоники сердечной ткани) [3].

В настоящее время ведутся эксперименты по использованию следующих СК: эмбриональные СК и фетальные КМЦ, гемопоэтические стволовые клетки (периферической и пуповинной крови), мезенхимальные СК, скелетные миобласты, клетки-сателлиты сердечной мышцы [1]. Рассмотрим наиболее перспективные из них.

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) формируются с 3 по 5-ю сутки эмбрионального развития (клетки эпибласта). ЭСК обладают огромным потенциалом дифференцировки (в любую ткань организма), высокой пролиферативной активностью и могут дать начало всем трем зародышевым листкам (эндо-, экто-, мезодерма). При правильном культивировании ЭСК могут совершать неограниченное количество митотических делений и сохранять способность дифференцироваться в любой вид соматической клетки, в том числе и в кардиомиоциты [1]. Эксперименты показывают и на то, что ЭСК способны стимулировать выработку факторов роста эндотелия сосудов, таких как VEGF [4]. В 2002 J. Muller-Ehmsen и соавт. Получили положительные экспериментальные данные. После введения ЭСК было отмечено увеличение толщины левого желудочка, некоторое увеличение фракции выброса левого желудочка, а также улучшение коронарного кровообращения. Практически те же результаты были получены в 2003 г. T. Reffelmann и соавт. Однако следует отметить, что для дифференцировки в КМЦ ЭСК требуют специального микроокружения. Без такого окружения процент спонтанной дифференцировки в КМЦ не превышает 5 %. Высокий процент КМЦ, образовавшихся из ЭСК, является проводящими [1]. Однако, с использованием ЭСК связывают и ряд отрицательных эффектов. Так, отмечен высокий

риск развития тератокарциномы, аритмогенный потенциал введения ЭСК. Отрицательным качеством ЭСК является их аллогенность. Их применение связано с этическими проблемами [1].

Стволовые клетки пуповинной крови (СКПК). Пуповинная кровь является одним из наиболее доступных и полноценных источников стволовых клеток, в основном клеток-предшественниц, обладающих высокой пролиферативной способностью. Их легко выделить из субстрата крови и так же легко хранить. Создаются специальные банки стволовых клеток пуповинной крови. Риск иммунного отторжения таких клеток ниже чем ЭСК. В экспериментах было установлено, что СКПК могут дифференцироваться в зрелые эндотелиальные и мышечные клетки. В 2005 г. J. Leor и соавт. На модели показали, что СКПК могут мигрировать, колонизировать и пролиферировать в зоне ИМ. Был отмечен эффект предотвращения ремоделирования и дисфункции ЛЖ [1; 5]. Отрицательные аспекты использования СКПК: морально-этические, необходимость обучения медперсонала забору СКПК, необходимость получения согласия матери. Сложности создает и материальные затраты на хранение СКПК [1].

Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга (МСККМ). Способны дифференцироваться в хондроциты, остеобласты, адипоциты, фибробласты и могут формировать строму костного мозга. В эксперименте было доказана способность МСККМ дифференцироваться в КМЦ и скелетные миоциты под действием 5-азациитидина и микроокружения [4]. Одно из главных их достоинств – они аутологичны, т.е. не вызывают иммунного ответа. Также МСККМ обладают способностью к «хоуминг-эффекту». Значительно стимулируют ангиогенез, что выяснено в эксперименте. Введение МСККМ увеличивают сократимость и васкуляризацию миокарда, устойчивость к физнагрузкам, уменьшения воспалительного фона и предотвращение ремоделирования. Однако культивирование МСККМ требует значительных затрат. На данный момент эта наиболее перспективный тип стволовых клеток, т.к. они практически не

вызывают осложнений, а введение их дает значительные результаты. В то же время результаты зависят от метода введения. В настоящее время известны несколько хорошо изученных методов клеточной кардиомиопластики: интрамиокардиальное введение: трансэпикардиально и трансторакально, интракоронарное и внутривенное введение стволовых клеток, а также тканевая инженерия [1; 4]. Экспериментально было установлено, что интрамиокардиальное введение наиболее эффективно [1; 4].

Большинству критериев, обеспечивающих эффективную клеточную терапию соответствуют мезинхимальные стволовые клетки. При получении кардиомиогенной клеточной линии из клеток стромы ККМ и активации процессов дифференцировки в КМЦ, полученные клетки связаны между собой вставочными дисками, спонтанно сокращаются, имеют типичные саркоммеры, многочисленные митохондрии. Кроме того, МСК способны дифференцироваться в атипичные КМЦ, эндотелиоциты, стромальные и гладкомышечные элементы, также продуцировать многочисленные ростовые факторы и цитокины. Положительный эффект введения МСК был подтвержден многочисленными опытами.

Учеными НИИ кардиологии Томского научного центра сибирского отделения РАМН В.П. Поповым и соавт. были проведены опыты на 40 половозрелых крысах-самцах породы «Вистар» [3]. Моделирование ИМ проводили путем перевязки левой передней нисходящей коронарной артерии. Через 3-18 суток животным в бассейн левой передней нисходящей коронарной артерии вводили МСК либо питательную среду (контроль). Через 2,5 месяца сердце извлекали, морфометрическими методами измеряли площадь образовавшегося рубца. В результате проведенных исследований было установлено, что при моделировании острого инфаркта миокарда на фоне введения МСК, выживаемость животных составила 100 %, тогда как без трансплантации стволовых клеток этот показатель составил 77,3 %. При этом не происходило развития гипер-

трофии миокарда и развития сердечной недостаточности, а площадь рубца уменьшалась на 31-44 % [3]. В данном исследовании было выявлено, что костномозговые мезенхимальные клетки, способны в условиях моделирования острого инфаркта миокарда и кардиосклероза восстанавливать функцию поврежденного миокарда, способствовать инволюции рубцовой ткани и препятствовать развитию гипертрофии миокарда [3].

Еще один эксперимент, проведенный в Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. акад. И.П. Павлова, дает положительные прогнозы на использование СК в клинической медицине [7]. В исследовании сравнивалось влияние аутотрансплантации культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (МСККМ) и ядродержащих клеток костного мозга (ЯККМ) на морфофункциональное состояние миокарда после инфаркта. Эксперименты проводились на кроликах породы Шиншилла. Было сформировано 3 группы животных: животным 1-ой группы инъекционным способом вводилась ростовая среда α -MEM, животным второй группы – МСККМ (2×10^6), животным третьей группы – ЯККМ (2×10^6). Анализ региональной сократимости левого желудочка показал, что в 1 и в 3 группе животных через 14 сут. После операции на передней стенке определялись акинетические участки, во 2 группе выявлялись гипокинетические участки в области передней стенки левого желудочка. Через 1 год после операции в 1 и 3 группах гр. животных сохранялись акинетические участки, во 2 гр. нарушений сократимости выявлено не было [7]. После введения МСККМ наблюдались выраженные положительные изменения показателей систолической функции сердца, проявляющиеся в полной нормализации всех показателей через 1 год после операции. В то время как у животных после аутотрансплантации ЯСККМ, наоборот выявилось резкое снижение показателей систолической функции ЛЖ, по сравнению с контрольной группой. Было выявлено что интрамиокардиальная трансплантация культуры МСККМ приводило к васкуляризации зоны повреждения.

МСККМ в условиях экспериментального ИМ уменьшили зону повреждения, улучшили показатели систолической функции сердца. Авторы полагают, что выявленные эффекты введения МСККМ могут быть результатом паракринного действия трансплантированных клеток, либо их дифференцировкой в те или иные структуры миокарда. На гистологических препаратах миокарда апикального сегмента у всего животного аневризма не обнаружена. В то же время интрамиокардиальная трансплантация ЯККМ вела к увеличению зоны ишемического повреждения сердца, ухудшением его систолической функции на фоне улучшения васкуляризации. Такой эффект ЯККМ, полагают авторы, обусловлен способностью этих клеток влиять на воспалительную реакцию как за счет изменения количественного и качественного состава цитокинов в очаге воспаления, так и их непосредственного участия. На гистологических препаратах миокарда апикального сегмента у всех животных определялась прогрессирующая циркулярная аневризма с признаками расслоения, представленная фиброзной тканью [7].

Таким образом, современные исследования показали, что своевременное применение клеточных технологий в терапии ИБС помогает достичь снижения гипертрофии сердца, предупреждения развития постинфарктной аневризмы, ускорения процессов регенерации миокарда, предотвращения распространения очага некроза и рубцовой ткани, улучшения диастолических свойств миокарда и насосной функции сердца, стимуляции процессов ангиогенеза и оксигенации миокарда. Применение подобных клеточных технологий вполне может препятствовать прогрессированию ишемической болезни сердца и хронической сердечной недостаточности, а также служить профилактикой развития инфаркта миокарда. С помощью стволовых клеток появилась возможность добиться уменьшения размера постинфарктного рубца и, соответственно, снизить риск формирования на этом месте аневризматического выпячивания.

Список использованных источников

1. Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Чекнева И.С. Клеточная терапия в лечении хронической сердечной недостаточности: виды применяемых стволовых клеток, результаты последних клинических исследований // *Kardiol serdecno-sosud hir*. 2008. № 5. С. 4-18.
2. Гулевский А.К. Клеточная трансплантация в кардиомиопластике при ишемическом повреждении сердца // *БИОТЕХНОЛОГИЯ*. 2011. Т. 4. № 1. С. 60-73.
3. Шахов В.П. Стволовые клетки и кардиомиогенез в норме и патологии. Томск: STT, 2004. 170 с.
4. Куртова А.В. Постинфарктная клеточная регенерационная медицина сердечной мышцы // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2006. № 2 (4). С. 35-43.
5. Мелихова В.С. Клеточные популяции, выделяемые из пуповинно-плацентарного комплекса и перспективы их научно-практического использования // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2007. Т. II. № 4. С. 31-38.
6. Куртова А.В. Постинфарктная клеточная регенерационная медицина сердечной мышц // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2006. № 2 (4). С. 35-43.
7. Давыденко В.В. Влияние ауто трансплантации различных клеток костного мозга на морфофункциональное состояние миокарда кролика после инфаркт // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2007. Т. II. № 2. С. 52-62.