

# РЕГЕНЕРАЦИЯ И РЕПАРАЦИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ И ПОЧЕК: РОЛЬ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ

*О.Я. Бабак, И.И. Топчий*

*Институт терапии имени Л.Т. Малої АМН України, Харьков*

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистая система, почки, инфаркт миокарда, хроническая ишемическая болезнь сердца, гломерулонефрит, нефропатии, стволовые клетки, клетки-предшественники, регенерация, репарация.

Традиционное представление, что органы человека имеют ограниченную регенерационную способность, опровергнуто в последние годы, так как установлено, что стволовые клетки (СК) костного мозга и циркулирующие клетки-предшественники (КП) участвуют в восстановлении, реконструкции и образовании новых сосудов, то есть в процессе, который, как считалось раньше, был невозможен после рождения. За прошлые несколько лет биологи и врачи общими усилиями достигли впечатляющего продвижения в понимании патофизиологических механизмов регенерации внутренних органов, лечения сердечно-сосудистых заболеваний, диабета и почек. О повышении интереса клиницистов к теме репарации и регенерации органов свидетельствует проведение двух больших форумов ведущих ученых планеты, специалистов по молекулярным механизмам регенерации, которые состоялись в Генуе (Италия) 26—28 февраля 2004 года и в Каруизаве (Япония) 20—22 января 2005 года. Около 500 ученых из США, Австрии, Германии, Франции, Италии, Великобритании, Швеции и Японии представили на них последнюю информацию о молекулярных механизмах развития и регенерации центральной нервной системы, сердца, сосудов и почек. Была продемонстрирована перспективность новых и быстро развивающихся направлений в лечении ряда заболеваний с использованием СК. По общему мнению экспертов, новые технологии и методы исследования в клеточной биологии, внедрение этих разработок в клиническую практику станут показателем уровня развития биологической и медицинской науки в ближайшем будущем [1, 2, 3].

## **Образование и физиологическая роль клеток-предшественников**

Стволовые клетки сердца, крови, почек, костей и мышечной ткани образуются в мезодерме зародыша

в виде недифференцированных клеток, способных к самовоспроизведению и являющихся источником регенерации тех тканей, в которых они сохраняются. В дальнейшем при делении каждая СК может или оставаться самообновляющейся, или превращаться в специализированную КП (более дифференцированные СК) [30]. Традиционно считается, что СК относятся к определенным линиям (тканевая специфичность) и с увеличением степени созревания они теряют способность к дифференциации (возвращение к более незрелым формам) или к трансдифференциации (превращение в клетки другой линии). CD34+ гематопоэтические КП (ГКП) дифференцируются в эритроциты, тромбоциты, различные виды лейкоцитов и эндотелиальные клетки. Мононуклеарные КП можно определить в периферической крови методом цитометрии с помощью различных поверхностных белковых маркеров, таких, как CD34 и CD133, а также по их морфологическим свойствам [43]. Цитометрия эндотелиальных КП (ЭКП) все еще затруднена из-за технических сложностей и очень малого их количества в периферической крови. Однако ЭКП способны прилипать к культивируемым платам, поэтому могут быть отделены от мононуклеарной фракции клеток периферической крови и идентифицированы далее в культуре благодаря различным характеристикам маркеров эндотелиальных клеток [19].

Предполагалось, что КП, которые циркулируют в крови, являются частью физиологической системы репарации, предназначенной для восстановления поврежденных органов и что этот механизм служит противовесом медленному повреждению при дегенеративных процессах или старении [21]. Однако в случае массовой деструкции, например, при остром инфаркте миокарда, физиологической способности к репарации недостаточно. Кроме то-

го, исследования клеток, выделенных из почек зародышей показали, что они обладают полипотентностью, однако, неизвестно, является ли полипотентность КП результатом стимуляции мезодермы или в зародыше уже содержится смесь КП, которые способны формировать клетки различных линий, имеющих в зрелом органе [35].

#### **Стволовые клетки и клетки-предшественники при болезнях сердца и сосудов**

До недавнего времени полагали, что сердце не обладает регенерационной способностью, потому что взрослые кардиомиоциты окончательно дифференцированы и потеряли способность к обновлению. Единственной реакцией на увеличение функциональных потребностей миокарда считалась гипертрофия кардиомиоцитов. Однако это представление было опровергнуто результатами обследования больных после трансплантации сердца [34]. При биопсии миокарда реципиентов мужчин, которым было пересажено женское донорское сердце, в клетках обнаружены Y хромосомы. Это свидетельствовало о том, что это клетки не донорского сердца, а реципиента, они переместились в пересаженное сердце. Клетки, содержащие Y хромосомы, определялись как в миокарде, так и в сосудах. Было показано, что клетки, восстанавливающие сердечную мышцу, исходят из костного мозга [13].

По данным экспериментальных исследований, ЭКП фактически руководят реэндартализацией поврежденной сосудистой стенки, так как секретируют большое количество важных цитокинов, которые привлекают и направляют клетки, необходимые при репарации эндотелия [47]. Клинические исследования показали, что количество периферических ЭКП уменьшается с увеличением количества сердечно-сосудистых факторов риска [48] и, напротив, увеличенная способность к образованию колоний ЭКП связана с улучшенной сосудорасширяющей функцией эндотелия и показателем его целостности — предиктором благоприятного сердечно-сосудистого прогноза [19]. Эта корреляция прослеживается даже у здоровых субъектов без манифестированного атеросклероза, и количество ЭКП связано со степенью эндотелиальной дисфункции [48]. Кроме того, при клинических состояниях, связанных с увеличенным риском сердечно-сосудистых заболеваний, например, при сахарном диабете, количество и/или функция ЭКП снижается [46].

Одним из пусковым механизмом цепной реакции для выделения клеток-предшественников из костного мозга считается ишемия [44]. Недостаточность кровоснабжения приводит к выработке молекул-посредников (факторы роста, цитокины), которые циркулируют в крови и проникают в костный мозг, например эритропоэтин или колониестимулирующий фактор гранулоцитов [18]. Поступая в кровь, эти стимуляторы принимают участие в активации КП и выделении их из костного мозга. При прохождении через ишемизированную

ткань, КП связываются с рецепторами и белками-посредниками, выделяемыми из ткани, и направляются в участки повреждения. Также они принимают участие в образовании новых сосудов. Как показали экспериментальные работы, КП из костного мозга после ишемического повреждения перемещаются в сердце [29] и в почки [7]. Эти исследования продемонстрировали, что у животных, которых лечили с применением клеток-предшественников, улучшаются функции органов — уменьшается степень ремоделирования желудочков и активизируется его насосная функция, снижается содержание мочевины после перевязки почечной артерии [38].

Результаты экспериментальных исследований легли в основу попыток клинического применения СК. Для восстановления сердечной мышцы использовались различные типы клеток: скелетные миобласты, культивируемые после биопсии скелетной мышцы [33], клетки костного мозга или циркулирующие КП [40]. Однако у больных, которым вводили скелетные миобласты, были выявлены опасные для жизни желудочковые аритмии [39]. Такие осложнения не отмечены у пациентов, которые получали костно-мозговые клетки или циркулирующие КП [50], по-видимому, скелетные миобласты не могут дифференцироваться в кардиомиоциты. По данным «Исследования по трансплантации клеток (терапевтический ангиогенез)-ТАСТ», клетки костного мозга оказывают положительный эффект и у больных с болезнью периферических артерий [45].

#### **Применение стволовых клеток при остром инфаркте миокарда**

О первом клиническом применении КП для лечения острого инфаркта миокарда сообщили B. Strauer et al., которые вводили полученные методом аспирации из костного мозга клетки в коронарную артерию 10 пациентам [42]. Авторы отметили положительное влияние такой терапии на перфузию миокарда и функцию левого желудочка. В другом исследовании изучали эффективность введения определенной фракции клеток костного мозга (CD 133+) в сердце в процессе кардиохирургического вмешательства [41]. В исследовании «Трансплантация клеток-предшественников и повышение регенерации при остром инфаркте миокарда (TOPCARE-AMI)» были обследованы 59 пациентов на 3—7-й день после успешной чрескожной реваскуляризации путем имплантации стента в артерию инфарктированной зоны в острой фазе инфаркта миокарда [40]. Пациентам вводили или клетки костного мозга, или циркулирующие КП непосредственно в просвет артерии инфарктной зоны. Продемонстрирована безопасность внутрикоронарной инфузии клеток обоих типов, не было отмечено никаких признаков воспаления или микроэмболизации, индуцированных клеточной терапией. После такого лечения значительно улучшался коронарный резерв, достигая рекомендуемого уровня. Кроме того, после кле-

точной терапии увеличилась фракция выброса, что связано с улучшением жизнеспособности миокарда, измеренной с помощью позитронной эмиссионной томографии, редуцировался размер зоны инфаркта миокарда (по данным ЯМР-томографии) [9]. Высказывается предположение, что терапия КП может приводить к образованию новых сосудов и увеличению их пропускной способности. Эти внушающие оптимизм результаты были подтверждены недавно представленными результатами исследования Bone Marrow Transfer to Enhance ST-Elevation Infarct Regeneration (BOOST) [50], в котором изучали влияние внутрикоронарного введения костно-мозговых КП на течение острого инфаркта миокарда у 60 пациентов. Принимая во внимание, что фракция выброса улучшилась на 6,7% в группе леченных костно-мозговыми клетками и только на 0,7% в контрольной группе, эти данные продемонстрировали значительную эффективность данного метода лечения.

#### **Клеточная терапия при хронической ишемической болезни сердца**

Предпосылки для успешной терапии КП хронической ишемической болезни сердца менее обнадеживающие, чем при остром инфаркте миокарда. В течение острого периода пострадавший миокард становится более чувствительным к КП, потому что активизированный эндотелий усиливает экспрессию соответствующих рецепторов и выделяет молекулы-посредники, которые способствуют адгезии и перемещению КП. Чтобы преодолеть недостаточную стимуляцию КП к перемещению в направлении участков ишемии, некоторые исследователи пробовали вводить костно-мозговые КП непосредственно в сердечную мышцу через переднюю грудную стенку или во время операции на сердце. Ограниченные обычно малым количеством пациентов, такие исследования пока указывают только на безопасность и выполнимость этого вида лечения, а также на его перспективность, ведь в некоторых случаях улучшалась фракция выброса [37]. Вместе с тем в предварительном отчете об исследовании MAGIC показано, что этот вид терапии может быть связан с увеличением количества рестенозов [28]. Но из-за различных ограничений этого исследования (гетерогенная популяция, разные сроки реваскуляризации после острого инфаркта) выводы из него неубедительны. Напротив, авторы других экспериментальных работ, в которых использованы только КП (BOOST, TOPCARE-AMI), напротив, не указывают на увеличение уровня рестенозов при терапии КП и подтверждают новые возможности в лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы [40, 50].

В настоящее время продолжают клинические исследования у больных с болезнью коронарных артерий. Так, в Reinfusion of Enriched Progenitor Cells and Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction (MAGIC) — многоцентровом, двойном слепом, управляемом исследовании изучается влияние внутрикоронарной инфузии обогащенных

КП костного мозга на ремоделирование миокарда по сравнению с плацебо у 200 пациентов после инфаркта миокарда. Однако воздействие КП не может быть ограничено только фактическим их применением. Идет поиск методов повышения регенеративной способности органоспецифических резидентных КП (они обнаружены в сердце, а в почке в настоящее время только предполагаются) с помощью фармакологического воздействия. Действительно было показано, что статины, которые, как известно, улучшают сердечно-сосудистый прогноз, увеличивают количество циркулирующих КП и их содержание в неоинтимае после повреждения сосудов, противодействуя процессу рестеноза [49]. Однако для улучшения технологии лечения с применением стволовых клеток и фармакологического воздействия, определения его места в имеющихся консенсусах по лечению заболеваний сердечно-сосудистой системы необходимы дальнейшие исследования.

#### **Стволовые клетки при репарации и ремоделировании почек**

Исследования по изучению роли стволовых клеток в регенерации почек относительно менее продвинулись по сравнению с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, сказываются различия в методологических подходах и сложность их строения. Почки — одни из наиболее строго структурированных органов с комплексом взаимодействующих артерий, капилляров, канальцев со сложной трехмерной архитектурой, позволяющей регулировать ток крови, фильтровать большое количество жидкости и наконец повторно ее адсорбировать. Кроме того, почечные структуры и клетки участвуют в эндокринном и паракринном регулировании всего организма, реагируя и отвечая на сигналы извне. Долгие годы полагали, что регенерация такой сложной структуры после повреждения невозможна. Почечные клетки, такие как подоцит или эндотелиальные, считались необратимо дифференцированными, их потеря при апоптозе или некрозе обозначала заболевание почек и потерю функции органа. Но в последнее время стало очевидным, что клетки, выстилающие почечные канальцы, могут регенерировать. После повреждения и потери эпителиоцитов, которая ведет к острой почечной недостаточности, канальцевая функция восстанавливается в большинстве случаев и клетки канальцев заменяются. Кроме того, по крайней мере, в моделях на животных даже при полной потере гломерулярной структуры при Th<sub>1</sub>-гломерулонефрите клубочек может восстановиться после иммунологического повреждения.

Одной из главных сложностей в определении роли стволовых клеток в регенерации и репарации почек является специфичность ответа почек на повреждение. Ряд исследователей полагают, что в ответ на повреждение резидентные гломерулярные и канальцевые клетки регрессируют до примитивно-зародышевого фенотипа, и этот обратный эмбриогенез — ключевой шаг в заживле-

нии или сморщивании почек. По мнению других авторов, в дополнение к реконструкции ткани почек с помощью собственных клеток регенерация почек и их ремоделирование при развитии болезни включает миграцию стволовых гематопэтических КП. Эти клетки приобретают гломерулярный или канальцевый фенотип и принимают участие в эволюции поражений, заживлении или сморщивании.

Таким образом, при репарации и регенерации почек обсуждаются два главных механизма. Первый — репарация после ограниченного повреждения. После смерти почечных клеток при ишемии или воздействии токсинов эти клетки могут быть заменены или соседними клетками, или клетками проникающими, что более вероятно, из крови [11]. Основанием для такого предположения является сохраняющаяся целостность локальной «среды» (то есть, структуры базальной мембраны и других матричных компонентов, мембран соседних клеток и локально продуцируемых факторов), обеспечивающей адекватное дифференцирование и пролиферацию восстанавливающихся клеток [22]. Второй механизм — регенерация утраченных тканей. Регенерация предполагает, что могут быть заменены целые структуры почки. Восстановление ткани могли бы обеспечивать так называемые местные стволовые клетки, которые генерируют гломерулярные и канальцевые структуры в соответствии с врожденной программой. Предполагается, что подобно эмбриональному циклу развития, эти клетки имеют мезенхимальное происхождение и для нефрогенеза нуждаются в адекватной стимуляции [23].

Наличие гломерулярных клеток с зародышевыми и мезенхимальными характеристиками в процессе гломерулярного ремоделирования свидетельствует о возможности восстановления гломерулярных клеток. Несмотря на методологические сложности, исследования по определению роли стволовых клеток в регенерации и ремоделировании почек устойчиво развивались в течение последних 10 лет. Так, Asahara et al. идентифицировали клетки-предшественники с эндотелиальным фенотипом (эндотелиальные КП), циркулирующие в крови [6]. Результаты, подобные данным исследования по пересадке сердца в кардиологии, были получены и при заболеваниях почек. Poulson et al. установили наличие Y хромосомы в клетках почечных канальцев и клубочков у самок мышей, которые получили трансплантат костного мозга самца [38].

#### **Вклад в заживление и сморщивание гематопэтических стволовых клеток**

Изучение возможности перемещения ГКП в поврежденный клубочек является одним из ключевых направлений современных исследований. ГКП — полипотентные клетки, способные дифференцироваться в различные клетки почечной ткани [22]. Дифференциация ГКП в органоспецифические клетки зависит от окружающей микросреды и характеристик органа-реципиента. ГКП обнаружива-

ют как в костном мозге, так и в периферической крови наряду с их потомками. Эти клетки могут принимать участие и в физиологическом обороте мезангиальных клеток, и в реакции мезангия на повреждение [15]. У крыс, которым вводили антитела anti-Thy1, лизис мезангия сопровождается вбрасыванием в мальпигиев клубочек экстрагломерулярных КП из их пула в сосудистом русле, а при трансплантации костного мозга до 12% гломерулярных клеток, восстанавливающих клубочек, были из пересаженного костного мозга. Количество костномозговых Thy1+ клеток увеличивалось до тех пор, пока ремоделирование не прекратилось, при этом они составляли до 8% гломерулярных клеток [22]. Для перемещения этих клеток в поврежденный клубочек необходим тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и фактор роста фибробластов (bFGF). В то время как PDGF играет важную роль в перемещении КП в клубочки, bFGF был связан с пролиферацией восстанавливающихся мезангиальных клеток [17]. Эта последовательность событий подобна той, которая обеспечивает перемещение мезангиальных предшественников в зарождающийся клубочек в течение эмбриогенеза — при отсутствии PDGF у мышей нарушается миграция мезангиальных клеток в гломерулы, формируется спавшийся клубочек с ограниченным количеством мезангиальных клеток [31]. Эти наблюдения позволили предположить, что определенный процент мезангиальных клеток, участвующих в процессе заживления почек после острого экспериментального лизиса мезангия имеет костномозговое происхождение. Приток костномозговых КП в поврежденный клубочек может также внести вклад в прогрессирование сморщивания почек. Эксперименты по трансплантации костного мозга у грызунов показали, что развитие гломерулосклероза скорее зависит от фенотипа костного мозга, чем от почки непосредственно. Когда мышам, устойчивым к гломерулосклерозу был пересажен костный мозг от склонных к этой патологии мышей, у них развивался прогрессирующий гломерулосклероз [12]. Это свидетельствует о том, что гломерулосклероз может быть обусловлен продолжительным притоком костномозговых клеток, имеющих фенотип этой болезни. КП могут также внести вклад и в поддержание фенотипа болезни при состояниях, характеризующихся патологическим отложением иммуноглобулина в мезангии, таких, как IgA нефропатия. Следовательно, трансплантация клеток с нормальным фенотипом может оказать лечебный эффект. В поддержку такой гипотезы свидетельствуют результаты работы, показавшей, что трансплантация костного мозга от нормальных мышей тем, у которых имеются высокие уровни IgA и склонных к нефропатии IgA, ведет к уменьшению отложения IgA и уменьшению склероза клубочков [20]. Эти экспериментальные данные ясно показывают, что помимо фенотипически измененных резидентных мезангиальных клеток как в поврежденных, так и в нормальных клубочках имеются перемещенные костномозговые гематопэтичес-

кие клетки-предшественники, принимающие участие в ремоделировании почек. Заживление может зависеть от того, приобретают эти клетки зрелый фенотип (взрослые мезангиальные клетки, мезангиоциты) или остаются в зародышевом состоянии (мезангиобласты) со свойственной им склонностью к склерозу и сморщиванию почек. Трансплантация костного мозга и/или ГКП может иметь терапевтическое значение в лечении нефропатий, характеризующихся патологическим мезангиальным фенотипом [22]. Это возможно при условии, что при миграции в патологически измененный клубочек они приобретают здоровый взрослый фенотип. Дифференциация ГКП клеток и их созревание в определенных органах, по-видимому, зависит от локальных межклеточных и клеточно-матричных взаимодействий, активации факторов роста [15]. Так, недавно сообщено о стимуляторах стволовых клеток — ростовом факторе созревания и chemolactin — при гломерулонефритах [16]. Выделение активированными гломерулярными клетками стимулирующих факторов может служить ключевым моментом в привлечении ГКП к клубочку и их созревании в процессе репарации и/или сморщивания. Другие факторы роста, которые могут воздействовать на перемещение КП, такие, как PDGF и bFGF, также вовлечены в патогенез гломерулярной пролиферации и сморщивания [24]. Вопрос о том, может ли дифференциация стволовой клетки быть проведена *in vitro* до введения этих клеток реципиентам с болезнями почек, является предметом дальнейших исследований.

#### **Регуляция репарации эндотелиальных клеток сосудов почек**

Экспериментальные работы показали, что реакция гломерулярных клеток на повреждение более сложна и сопровождается значительными изменениями фенотипической адаптации. Например, поврежденные эндотелиальные клетки быстро теряют противосвертывающие, противовоспалительные и антипролиферативные характеристики, изменяется их фенотип с приобретением прокоагулянтных, провоспалительных и митогенных свойств. Это ведет к выделению в большом количестве хемокинов, цитокинов и факторов роста, которые привлекают тромбоциты и воспалительные клетки. Изменения фенотипа эндотелия также включают изменение свойств поверхности клетки этих клеток с потерей их противoadгезивных и противосвертывающих характеристик, что способствует адгезии тромбоцитов и лейкоцитов [46, 47]. Важным фактором в потере противосвертывающих и противовоспалительных свойств поврежденного гломерулярного эндотелия может быть снижение активности его синтаз азота оксида (NOS). Радикалы азота оксида, производимые нормальными гломерулярными эндотелиальными клетками принимают участие в регулировании гломерулярного сосудистого тонуса так же, как и в ингибировании агрегации тромбоцитов. Потеря NO-опосредованных противосвертывающих

свойств может вносить вклад в прилипание и агрегацию тромбоцитов в пределах поврежденного клубочка подопытных животных и людей. Азота оксид также ингибирует прилипание лейкоцита к гломерулярным капиллярам и таким образом оказывает противовоспалительное влияние. Потеря такого защитного фактора наряду с экспрессией молекул прилипания клетки способствует инфильтрации капилляров клубочка воспалительными клетками. Например, у мышей без NOS развивается ускоренная форма нефротоксического серологического нефрита с усилением тромбообразования и инфильтрацией клубочков нейтрофилами [10]. Фармакологическая блокада синтеза NO ускоряет прогрессирование гломерулосклероза у крыс и ухудшает восстановление гломерулярных эндотелиальных клеток, поскольку это связано с апоптозом и снижением содержания ангиогенного эндотелиального фактора роста (VEGF) [26]. О сниженном содержании VEGF сообщали при субтотальной нефрэктомии и развитии гломерулосклероза в ремнантных почках, назначение VEGF165 усиливало репарацию капилляров клубочков и ускоряло заживление повреждений [27].

Понимание патогенеза ключевых событий при ремоделировании почек, определение их основных медиаторов может открыть путь к новым технологиям лечения, основанным на манипулировании этими событиями и нацеленным на улучшение репарации почек.

#### **Фармакологическая коррекция состава КП и факторов, влияющих на их образование и перемещение**

Установлено, что количество ЭКП в периферической крови может быть увеличено в ответ на фармакологические вмешательства, например, при назначении статинов или блокаторов ангиотензиновых рецепторов [8, 49]. Кроме того, доказано, что рекомбинантный человеческий эритропоэтин (rhEPO) или его аналог darbepoetin является мощным стимулятором функциональной активности и пролиферации ЭКП [7]. Выраженная стимуляция ЭКП *in vitro* и *in vivo* отмечалась даже в случаях введения небольших терапевтических доз rhEPO при лечении почечной анемии [18]. Параллельно с улучшением ангиогенеза, rhEPO непосредственно активизирует Akt тирозинкиназный путь в ЭКП [14]. Стимуляция этого важного для выживания клеток пути может делать ЭКП более устойчивыми в ишемической среде, как было продемонстрировано недавно для мезенхимальных стволовых клеток с наследственно повышенной активностью Akt пути [32].

Таким образом, стимуляция ЭКП с помощью статинов и/или rhEPO и коррекция системы L-аргинин/оксид азота может стать перспективной терапевтической стратегией при лечении сердечно-сосудистых заболеваний и профилактике осложнений атеросклероза. Этот подход может быть полезен и больным с заболеваниями почек, риск сердечно-сосудистых осложнений у которых осо-

бенно высок. В этом случае назначать статины и/или rhEPO необходимо на более ранней стадии хронической болезни почек, чем рекомендуется в настоящее время.

### Выводы

Начало нового тысячелетия ознаменовалось разработкой новой стратегии лечения, целью которой является не только приостановка прогрессирования болезни, но и восстановление в перспективе функции поврежденных органов. Новая терапевтическая концепция основывается на результатах экспериментальных и клинических исследований, определивших основные этапы процессов репарации и регенерации органов при различных заболеваниях. Было установлено, что в поврежденных органах выделяются цитокины, стимулирующие выработку в костном мозге КП. Они направляются с током крови в поврежденный орган. В органах-мишенях эти клетки перегруппировываются и прикрепляются в местах повреждения, обеспечивая естественный механизм репарации, который противодействует старению клеток и дегенеративным процессам. Механизм действия КП изучен недостаточно. Он может включать образование новых сосудов, паракринную активность и, возможно, трансдифференциацию клеток. Относительную значимость каждой составляющей этих механизмов еще следует определить.

Положительные результаты экспериментальных исследований послужили основанием для иницирования клинических испытаний по проверке безопасности и эффективности терапии с применением СК и КП при болезни периферических артерий и инфаркте миокарда. Введение клеток кост-

ного мозга или циркулирующих КП в коронарную артерию после острого инфаркта миокарда не только продемонстрировало безопасность этой процедуры, но также показало перспективность этого метода. Еще более важной, чем терапия стволовыми клетками при острой дисфункции миокарда, может быть профилактика прогрессирующего атеросклероза и связанных с ним синдромов. В этом отношении циркулирующие КП можно даже предпочесть введению СК, поскольку первые могут стимулироваться *in vivo* целенаправленными фармакологическими вмешательствами с активацией биохимических каскадов передачи сигналов, которые вносят вклад в регенерацию органов. Есть потенциальные направления и в нефрологии, где модификация активности КП могла бы быть полезной — при ишемической болезни почек, гломерулопатиях, васкулопатии трансплантата. Коррекция реэндотелизации или уменьшение пролиферации клеток позволит противодействовать развитию в почках фиброзирующих процессов.

Вместе с тем, концепция клеточной терапии должна быть представлена более четко. Еще не определен лучший способ применения клеток (количество, способ введения). В настоящее время все еще нет единой точки зрения о возможности применения различных комбинаций КП, нет четких критериев степени активности КП, так как маркеры, используемые для идентификации КП (например, CD34 + или CD133 +), не связаны непосредственно с их активностью. Кроме того, необходимы дальнейшие исследования по изучению эффективности терапевтических мероприятий (генная и фармакотерапия), направленных на улучшение функции КП.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Возіанов О.Ф.* Медична генетика, геноміка, генетична медицина — прогноз на найближче майбутнє // Містечтво лікування.— 2003.— № 6.— С. 6—9.
2. *Грищенко В.И.* Проблема стволовых клеток: фундаментальные и прикладные аспекты // Журн. АМН України.— 2004.— Т. 10, № 2.— С. 253—258.
3. *Дынник О.Б., Нудченко А.В., Залесский В.Н.* Клинические аспекты клеточной кардиомиопластики // Кровообіг та гемостаз.— 2005.— № 1.— С. 23—31.
4. *Лакомкин В.Л., Алоев Р.С., Черпаченко Н.М. и др.* Влияние цитокина лейкомакса на функцию и регенерацию миокарда у крыс с экспериментальным инфарктом // Кардиол.— 2005.— Т. 45, № 3.— С. 64—70.
5. *Шумаков В.И., Козаков Э.Н., Онищенко Н.А.* Первый опыт клинического применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для восстановления сократительной функции миокарда // Рос. кардиол. журн.— 2003.— № 5.— С. 42—50.
6. *Asahara T., Murohara T., Sullivan A. et al.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis // Science.— 1997.— Vol. 275.— P. 964—967.
7. *Bahlmann F.H., De Groot K., Spandau J.* Erythropoietin regulates endothelial progenitor cells // Blood.— 2004.— Vol. 103.— P. 921—926.
8. *Bahlmann F.H., De Groot K., Mueller O.* Stimulation of endothelial progenitor cells. New putative therapeutic effects of angiotensin II receptor antagonists // Hypertension.— 2005.— Vol. 45.— P. 526—529.
9. *Britten M.B., Abolmaali N., Assmus B. et al.* Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): Mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging // Circulation.— 2003.— Vol. 108.— P. 2212—2218.
10. *Catiell V.* Nitric oxide and glomerulonephritis // Kidney Int.— 2002.— Vol. 61.— P. 816—821.
11. *Choi J.H., Kim K.L., Huh W.* Decreased number and impaired angiogenic function of endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure // Arterioscler. Thromb. Vase Biol.— 2004.— Vol. 24.— P. 1246—1252.
12. *Cornacchia F., Fornoni A., Plati A.R.* Glomerulosclerosis in transmittted by bone marrow-derived mesangial cell progenitor // J. Clin. Invest.— 2001.— Vol. 108.— P. 1649—1656.
13. *Deb A., Wang S., Skelding K.A. et al.* Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: A study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients // Circulation.— 2003.— Vol. 107.— P. 1247—1249.
14. *Dimmeler S., Aicher A., Vasa M.* HMG-CoA reductase in hibitors increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway // J. Clin. Invest.— 2001.— Vol. 108.— P. 391—397.

15. Donovan P.J., Gearhart J. The end of the beginning for pluripotent stem cells // *Nature*.— 2001.— Vol. 414.— P. 92—97.
16. El-Koraie A.F., Baddour N.M., Adam A.G. Role of stem cell factor and mast cells in the progression of chronic glomerulonephritides // *Kidney Int.*— 2001.— Vol. 60.— P. 167—172.
17. Hasfly L.A., Hugo C., Reidy M.A., Johnson R.J. Dissociation mesangial cell migration and proliferation in experimental glomerulonephritis // *Kidney Int.*— 1999.— Vol. 56.— P. 964—972.
18. Heeschen C., Aicher A., Lehmann R. Erythropoietin is a potent physiological stimulus for endothelial progenitor cell mobilization // *Blood*.— 2003.— Vol. 102.— P. 1340—1346.
19. Hill J.M., Zalos G., Halcox J.P. et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk // *N Engl Med* — 2003.— Vol. 348.— P. 593—600.
20. Imasawa T., Nagasawa R., Utsunomiya Y. Bone marrow transplantation attenuates murine IgA nephropathy: Role of stem cell disorder // *Kidney Int.*— 1999.— Vol. 56.— P. 1809—1817.
21. Isner J.M., Kalka C., Kawamoto A., Asahara T. Bone marrow as a source of endothelial cells for natural and iatrogenic vascular repair // *Ann. NY Acad. Sci.*— 2001.— Vol. 953.— P. 75—84.
22. Ito T., Suzuki A., Imai E. Bone marrow is a reservoir of repopulating mesangial cells during glomerular remodeling // *J. Am. Soc. Nephrol.*— 2001.— Vol. 12.— P. 2625—2635.
23. Ito T., Suzuki A., Okabe M. Application of bone marrow-derived stem cells in experimental nephrology // *Exp Nephrol.*— 2001.— Vol. 9.— P. 444—450.
24. Johnson R.J. The glomerular response to injury: progression or resolution? // *Kidney Int.*— 1994.— Vol. 45.— P. 1769—1782.
25. Kalka C., Masuda H., Takahashi T. et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.— 2000.— Vol. 97.— P. 3422—3427.
26. Kang D.H., Nakagawa T., Feng L., Johnson R.J. Nitric oxide modulates vascular disease in the remnant kidney model // *Am. J. Pathol.*— 2002.— Vol. 161.— P. 239—248.
27. Kang D.H., Johnson R.J. Vascular endothelial growth factor: A new player in the pathogenesis of renal fibrosis // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*— 2003.— Vol. 12.— P. 43—49.
28. Kang H.J., Kim H.S., Zhang S.Y. et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and re-stenosis after coronary stenting in myocardial infarction: The MAGIC cell randomised clinical trial // *Lancet*.— 2004.— Vol. 363.— P. 751—756.
29. Kawamoto A., Gwon H.C., Iwaguro H. et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia // *Circulation*.— 2001.— Vol. 103.— P. 634—637.
30. Korbling M., Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair — A new therapeutic concept? // *N. Engl. Med.*— 2003.— Vol. 349.— P. 570—582.
31. Lindhal P., Hellstrom M., Kalen M. Paracrine PDGF-B/PDGF-R beta signalling controls mesangial development in kidney glomeruli // *Development*.— 1998.— Vol. 125.— P. 3313—3322.
32. Mangi A.A., Noiseux N., Kong D. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts // *Nat. Med.*— 2003.— Vol. 9.— P. 1195—1201.
33. Menasche P., Hagege A.A., Vilquin J.T. et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction // *Am. Coll. Cardiol.*— 2003.— Vol. 41.— P. 1078—1083.
34. Muller P., Pfeiffer P., Koglin J. et al. Cardiomyocytes of noncardiac origin in myocardial biopsies of human transplanted hearts // *Circulation*.— 2002.— Vol. 106.— P. 31—35.
35. Oliver J.A., Maarouf O., Cheema F.H. The renal papilla is a niche for adult kidney stem cells // *Clin. Invest.*— 2004.— Vol. 114.— P. 795—804.
36. Pagani F.D., DerSimonian H., Zawadzka A. et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. Histological analysis of cell survival and differentiation // *Am. Coll. Cardiol.*— 2003.— Vol. 41.— P. 879—888.
37. Perin E.C., Dohmann H.F., Borojevic R. et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure // *Circulation*.— 2003.— Vol. 107.— P. 2294—2302.
38. Poulson R., Alison M.R., Cook T. et al. Bone marrow stem cells contribute to healing of the kidney // *Am. Soc. Nephrol.*— 2003.— 14 [Suppl 1].— P. 48—54.
39. Smits P.C., van Geuns R.J., Poldermans D. et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: Clinical experience with six-month follow-up // *J. Am. Coll. Cardiol.*— 2003.— Vol. 42.— P. 2063—2069.
40. Schachlinger V., Assmus B., Britten M.B. et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: Final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial // *J. Am. Coll. Cardiol.*— 2004.— Vol. 44.— P. 1690—1699.
41. Stamm C., Westphal B., Kleine H.D. et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration // *Lancet*.— 2003.— Vol. 361.— P. 45—46.
42. Strauer B.E., Brehm M., Zeus T. et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans // *Circulation*.— 2002.— Vol. 106.— P. 1913—1918.
43. Sutherland D.R., Anderson L., Keeney M. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering // *Hematother.*— 1996.— Vol. 5.— P. 213—226.
44. Takahashi T., Kalka C., Masuda H. et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization // *Nat. Med.*— 1999.— Vol. 5.— P. 434—438.
45. Tateishi-Yuyama E., Matsubara H., Murohara T. et al. Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators: Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: A pilot study and a randomised controlled trial // *Lancet*.— 2002.— Vol. 360.— P. 427—435.
46. Tepper O.M., Galiano R.D., Capla J.M. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures // *Circulation*.— 2002.— Vol. 106.— P. 2781—2786.
47. Urbich C., Heeschen C., Aicher A. Relevance of monocytic features for neovascularization capacity of circulating endothelial progenitor cells // *Circulation*.— 2003.— Vol. 108.— P. 2511—2516.
48. 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.— Vol. 89.— P. E1-E7.
49. Walter D.H., Rittig K., Bahlmann F.H. et al. Statin therapy accelerates reendothelialization: A novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells // *Circulation*.— 2002.— Vol. 105.— P. 3017—3024.
50. Wollert K.C., Meyer G.P., Lotz J. et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: The BOOST randomised controlled clinical trial // *Lancet*.— 2004.— Vol. 364.— P. 141—148.

## РЕГЕНЕРАЦІЯ І РЕПАРАЦІЯ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ ТА НИРОК: РОЛЬ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН І КЛІТИН-ПОПЕРЕДНИКІВ

О.Я. Бабак, І.І. Топчій

Традиційні уявлення, що органи людей мають обмежену можливість до регенерації, переглянуто останніми роками. З'ясувалося, що зрілі стовбурові клітини кісткового мозку, а також клітини-попередники беруть участь в утворенні нових судин. Орган, який постраждав від ішемії, виділяє цитокіни. Вони разом з током крові досягають кісткового мозку та стимулюють мобілізацію клітин-попередників, що потім рухаються з кров'ю в пошкоджений орган. Таким чином, ці клітини є складовою природного механізму репарації, який протидіє дегенеративним процесам. На підставі експериментальних даних було проведено клінічні дослідження щодо застосування терапії стовбуровими клітинами. Результати продемонстрували можливість та безпечність використання їх при хворобах периферійних судин та інфаркті міокарда. Модифікація активності клітин-попередників може бути корисна і в нефрології. Впровадження методу інтеграції клітин-попередників у лікувальний процес може забезпечити нову терапевтичну стратегію, що допоможе не тільки сповільнити прогресування хвороби, а й регенерувати пошкоджені органи.

## REGENERATION AND REPARATION OF CARDIOVASCULAR SYSTEM AND KIDNEYS: A ROLE OF STEM CELLS AND PROGENITOR CELLS

O.Ya. Babak, I.I. Topchiy

The traditional view that human organs have only limited regenerative capacity has been challenged in recent years. It has identified that adult bone marrow stem cells as well circulating progenitor cells play role in the formation of new vessels. A damaged by ischemia organ starts to release cytokines. With the blood flow they reach the bone marrow and stimulate mobilization of progenitor cells to the blood which then migrate into the damaged organ. Thus, these progenitor cells most likely constitute a natural repair mechanism that counteracts degenerative or aging processes. On the basis of encouraging experimental data clinical trials have been designed to study the use of stem cells therapy. The results of these trials demonstrated feasibility and safety of its use at peripheral vascular disease and myocardial infarction. Modification of progenitor cells activity might be of benefit in nephrology as well. The working out of the method of progenitor cells integration in the treatment process can provide the new therapeutic strategy that will promote not only disease progression retardation but also regeneration of damaged organs.