

https://russjcardiol.elpub.ru
doi:10.15829/1560-4071-2019-11-84-90

ISSN 1560-4071 (print)
ISSN 2618-7620 (online)

Стволовые клетки сердца: факт или фантазия?

Парфенова Е. В.^{1,2}

Весной 2018г Гарвардская медицинская школа и Бригамская и женская больница сообщили об отзыве 31 статьи научной группы Пьеро Анверса, занимающихся более 15 лет исследованием стволовых клеток сердца, в связи с тем, что в этих статьях выявлены «сфальсифицированные и/или сфабрикованные данные». Эта крайне неприятная история бросила тень на другие группы исследователей, работающих в области изучения регенеративных эффектов клеток, получаемых из миокарда, и способствовала появлению крайне скептического мнения о возможностях регенеративных технологий в кардиологии вообще и полного отрицания наличия в сердце какого-либо регенеративного потенциала. В данном обзоре представлен анализ истории работ группы Анверса и других работ, посвященных изучению механизмов регенеративных процессов в сердце, современный взгляд на механизмы регенеративного потенциала сердца и регенеративных эффектов прогениторных клеток, получаемых из миокарда, и перспективы развития клеточных технологий в кардиологии.

Ключевые слова: стволовые клетки, регенерация, сердце, инфаркт миокарда, клеточная терапия.

Конфликт интересов: не заявлен.

Финансирование. Работа поддержана грантом РНФ № 19-15-00384.

¹ФГБУ НМИЦ кардиологии Минздрава России, Москва; ²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

Парфенова Е. В. — руководитель лаборатории ангиогенеза, директор Института Экспериментальной Кардиологии, зам. генерального директора по научной работе; профессор кафедры биохимии и молекулярной медицины, Факультет фундаментальной медицины, ORCID: 0000-0002-0969-5780, ResearcherID: B-9307-2014.

Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): yeparfyon@mail.ru

IGF-1 — инсулиноподобный фактор роста, HGF — фактор роста гепатоцитов, МСК — мезенхимальные стромальные клетки, ПКС — прогениторные клетки сердца, РНК — рибонуклеиновая кислота.

Рукопись получена 06.05.2019

Рецензия получена 03.06.2019

Принята к публикации 22.09.2019



Для цитирования: Парфенова Е. В. Стволовые клетки сердца: факт или фантазия? *Российский кардиологический журнал*. 2019;24(11):84–90
doi:10.15829/1560-4071-2019-11-84-90

Heart stem cells: fact or fantasy?

Parfenova E. V.^{1,2}

In the spring of 2018, Harvard Medical School and the Brigham and Women's Hospital reported the retraction of 31 articles of Dr. Piero Anversa lab, who have been studying heart stem cells for more than 15 years, due to the fact that these articles "included falsified and/or fabricated data". This extremely unpleasant incident cast suspicion on other research groups studying regenerative effects of cells harvested from the myocardium. It contributed to skeptical opinion about the possibilities of regenerative technologies in cardiology in general and the complete denial of any regenerative potential of heart. This review presents an analysis of Dr. Piero Anversa lab studies and other works devoted to the study of regenerative processes in the heart, a modern view on the mechanisms of the heart regenerative potential and the regenerative effects of progenitor cells harvested from the myocardium, and the prospects for the development of cellular technologies in cardiology.

Key words: stem cells, regeneration, heart, myocardial infarction, cell therapy.

Conflicts of Interest: nothing to declare.

Funding. This study was supported by a grant from the Russian Science Foundation № 19-15-00384.

¹National Medical Research Center of Cardiology, Moscow; ²Moscow State University, Moscow, Russia.

Parfenova E. V. ORCID: 0000-0002-0969-5780, ResearcherID: B-9307-2014.

Received: 06.05.2019 **Revision Received:** 03.06.2019 **Accepted:** 22.09.2019

For citation: Parfenova E. V. Heart stem cells: fact or fantasy? *Russian Journal of Cardiology*. 2019;24(11):84–90. (In Russ.)
doi:10.15829/1560-4071-2019-11-84-90

Весной 2018г Гарвардская медицинская школа (Harvard Medical School, HMS) и Бригамская и женская больница (Brigham and Women's Hospital, BWH) сообщили об отзыве из медицинских журналов 31 статьи научной группы Пьеро Анверса (Piero Anversa), в связи с тем, что в этих статьях выявлены «сфальсифицированные и/или сфабрикованные данные».

В прошлом году BWH выплатила американскому правительству 10 млн долларов в связи с обвинениями в том, что доктор Анверса и его коллеги использовали сфальсифицированные результаты для мошеннического получения федерального финансирования. Эта крайне неприятная история бросила тень на другие группы исследователей, работающих

в области изучения регенеративных эффектов клеток, получаемых из миокарда, и способствовала появлению крайне скептического мнения о возможностях регенеративных технологий в кардиологии вообще и полного отрицания наличия в сердце какого-либо регенеративного потенциала, что, конечно, абсолютно не соответствует действительности. Для того, чтобы разобраться в сущности претензий к работам группы Анверса, необходимо проследить историю этих работ.

Интенсивные исследования механизмов развития сердца в эмбриогенезе в последние два десятилетия показали, что клетки, образующие сердце, происходят из эмбриональных кардиоваскулярных прогениторных клеток, дифференцирующихся в основные клеточные типы миокарда [1]. В начале двухтысячных группа американского профессора Пьетро Анверса описала подобные клетки в постнатальном миокарде [2]. Они получили название резидентные стволовые, позже — прогениторные клетки сердца (ПКС) и рассматривались авторами как реликты эмбрионального развития, отвечающие за ограниченный регенеративный потенциал взрослого сердца. Их характерной чертой является экспрессия на своей поверхности рецептора *c-kit* к фактору стволовых клеток при отсутствии маркеров гематопоэтических (CD45, CD34) и тучных клеток (триптаза), что послужило основанием для их обозначения как *c-kit* позитивных ПКС (*c-kit*+, MEF2C+, CD45-, CD34-, триптаза-). Их количество в миокарде — 1 клетка на 30 тыс. клеток сердца. Исследование *c-kit*+ ПКС той же группой исследователей показало, что они обладают всеми свойствами постнатальных тканевых прогениторных клеток: клоногенностью, самоподдержанием, дифференцировкой в направлении нескольких клеточных типов данной ткани, в случае сердца — в кардиомиоцитарном, эндотелиальном и гладкомышечном направлении [2, 3]. Группой Анверса было показано, что ПКС локализируются и функционируют в определенном микроокружении, регулирующем их функции — “клеточных нишах”, располагающихся в областях наименьшей гемодинамической нагрузки — в области предсердий и верхушки сердца. При повреждении миокарда они мобилизуются из ниш и мигрируют в участок повреждения, где участвуют в репаративном процессе. Поэтому их количество многократно возрастает в перинфарктной зоне и в зоне инфаркта [2, 3]. Сегодня различными группами исследователей описано несколько популяций прогениторных клеток в сердце, которые отличаются основными маркерами и способами их выделения, и, в основном, представляют собой крайне гетерогенные популяции, в составе которых присутствуют *c-kit*+ клетки [4]. Первые работы по трансплантации *c-kit*+ ПКС или их мобилизации из ниш с помощью факторов роста, выполненные этой же группой уче-

ных, вызвали большой энтузиазм в научном сообществе, так как продемонстрировали высокую эффективность этих клеток в восстановлении функции сердца после инфаркта [4, 5]. Более того, было показано, что этот эффект в значительной степени обусловлен дифференцировкой *c-kit*+ ПКС в кардиомиоциты, а также в клетки сосудов [5]. Наиболее впечатляющие результаты были получены в работах по мобилизации эндогенных ПКС факторами роста, регулирующими их функции: фактором роста гепатоцитов (HGF) и инсулиноподобным фактором роста (IGF-1). Оказалось, что введение рекомбинатных белков этих факторов в миокард после моделирования инфаркта стимулирует их активацию из ниши, миграцию в область инфаркта, где они дифференцируются в кардиомиоциты и клетки сосудов, регенерируют миокард и восстанавливают функцию сердца, что приводило к выживаемости животных даже при обширных инфарктах, занимающих >80% левого желудочка [6, 7]. Причем это было подтверждено на грызунах, собаках и минисвиньях, как при внутримиекардиальном введении факторов роста, так и при их внутрикоронарном введении [6-8]. Разумеется, столь впечатляющие результаты, причем опубликованные в самых высокорейтинговых научных журналах, вызвали большой энтузиазм среди ученых, занимающихся проблемой восстановления миокарда после повреждения. Однако, последовавшие вскоре довольно многочисленные работы других лабораторий, включая наши собственные исследования, посвященные изучению эффектов ПКС и механизмов этих эффектов на моделях инфаркта и ишемии миокарда у различных животных, не смогли подтвердить сколько-нибудь значимой дифференцировки введенных клеток в кардиомиоциты [9, 10]. В то же время, большинство этих работ подтвердило эффективность трансплантации ПКС в плане восстановления функции сердца животных после инфаркта. Метаанализ результатов 80 доклинических исследований экспериментальной оценки эффективности аутологичных и аллогенных ПКС при остром инфаркте продемонстрировал в среднем увеличение фракции выброса почти на 11% по сравнению с плацебо, причем эффект был более значительным у мелких животных (грызунов), чем у крупных (мини-свиней) [11]. Таким образом, в экспериментальных работах по оценке эффективности ПКС на моделях инфаркта между различными научными группами существует определенный консенсус в отношении эффектов трансплантации этих клеток. Что же касается механизмов их действия, то выявились значительные противоречия между результатами работ группы Анверса, постулирующими наличие значимого кардиомиогенного потенциала у ПКС, и результатами других работ, не обнаруживших этого потенциала. Это позволило авторам последних отнести наблюдаемые эффекты

за счет паракринной активности введенных клеток и поставило под сомнение утверждение о том, что c-kit+ ПКС являются истинными резидентными прогениторными клетками, участвующими в процессах обновления пула кардиомиоцитов в течение жизни организма и их частичного восстановления после повреждений [9]. Параллельно проводившиеся исследования процессов обновления клеток сердца в течение жизни человека и животных выявили еще большие противоречия между работами группы Анверса и других научных групп. Так, при исследовании группой Анверса оборота (скорости обновления) кардиомиоцитов на основании оценки процента кардиомиоцитов, меченных йоддезоксифлуоридом, в постмортальных образцах сердец больных раком, получавших терапию аналогом тимидина, было показано, что в год в среднем обновляется 22% кардиомиоцитов [12]. Это свидетельствовало о беспрецедентно высоком уровне как гибели, так и появления новых кардиомиоцитов, что, возможно, было обусловлено влиянием заболевания и терапии, но никак не соотносилось с крайне ограниченной способностью сердца к регенерации. Используя другой метод оценки оборота кардиомиоцитов по углероду 14 эта же группа показала уже более низкую скорость оборота равную 8% в год [13]. Однако последующие работы других групп, в которых использовали оценку включения углерода 14 в ДНК людей, живших в период интенсивных ядерных испытаний, показали, что только ~1% клеток взрослого сердца обновляется в течение года в 20 лет и 0,3% — в 75 лет. Таким образом, к 50 годам только 45% кардиомиоцитов являются новообразованными [14]. Такая же скорость обновления кардиомиоцитов показана и у мышей [15], что свидетельствует о низком уровне процессов обновления этих клеток сердца и их замещения при повреждении, не совпадающем с результатами, полученными Анверса. Каков же механизм образования новых кардиомиоцитов взамен погибших? Его понимание является принципиальным для разработки стратегий восстановления погибших кардиомиоцитов при заболеваниях сердца. Согласно утверждению Анверса и его коллег, в значительной степени источником новых кардиомиоцитов является пул резидентных ПКС, дифференцирующихся в кардиомиоциты [16]. Для проверки этого утверждения и определения происхождения новых кардиомиоцитов, образующихся в организме мыши по мере старения или после инфаркта, были проведены работы с использованием трансгенных мышей с генетическими метками, генетического картирования с мечением стабильными изотопами и мультиизотопной имиджинговой масс-спектрометрии [17, 18]. Целью всех этих экспериментов был ответ на вопрос: “Происходят ли делящиеся кардиомиоциты в сердце мыши из c-kit+ ПКС?” Полученные результаты дали отрицательный ответ,

показав, что новые кардиомиоциты, образующиеся в течение жизни в неповрежденном сердце мыши или в процессе репарации после инфаркта, являются результатом деления небольшого пула существующих кардиомиоцитов, а не дифференцировки из c-kit+ ПКС [17-19]. Крайне незначительный процент новых кардиомиоцитов (<0,01% в год) все же происходил из ПКС. В то же время было показано, что часть новых клеток эндотелия сосудов происходила именно из резидентных c-kit+ ПКС [17]. Совсем недавно изучение механизма, способствующего образованию новых кардиомиоцитов, показало, что небольшая часть клеток взрослого сердца способна входить в клеточный цикл и формировать новые кардиомиоциты через 3-ступенчатый процесс, включающий дедифференцировку, пролиферацию и редифференцировку [20]. Причем редифференцировка индуцируется межклеточным кальциевым сигналом через щелевые контакты с соседними зрелыми функционирующими кардиомиоцитами. А что же запускает дедифференцировку и пролиферацию кардиомиоцитов? И вот здесь стоит обратиться к возможной роли c-kit+ клеток и других прогениторных клеток миокарда, не являющихся кардиомиоцитарными предшественниками, но обладающих регенеративными свойствами, как следует из результатов их трансплантации. Изучение секретомы ПКС показало, что он богат не только растворимыми биологически активными факторами, но и внеклеточными везикулами, а именно нановезикулами — экзосомами, и в целом обладает выраженной проангиогенной активностью, стимулирует пролиферацию культивируемых неонатальных кардиомиоцитов, модулирует внутриклеточные сигнальные пути, вовлеченные в регуляцию метаболизма белков, клеточного роста, образования внеклеточного матрикса и ответа клетки на стресс [21, 22]. Более того, сами экзосомы, выделенные из секретомы ПКС, обладали выраженными регенеративными свойствами при введении в миокард мыши после инфаркта — восстанавливали функцию сердца, уменьшали размер инфаркта [23]. Их действие было связано с уникальным составом регуляторных микроРНК, содержащихся в экзосомах ПКС, в частности, с высоким содержанием микроРНК-146, участвующей в регуляции ангиогенеза, пролиферации кардиомиоцитов и воспаления [23, 24]. Уникальность состава регуляторных микроРНК в экзосомах ПКС подтверждается сравнительными исследованиями с эффектами и составом экзосом, полученных из сердечных фибробластов, которые не обладали регенеративными эффектами при введении в миокард и не содержали микроРНК-146 и ряд других микроРНК, обнаруженных в экзосомах ПКС [23]. Эти свойства делают секретом ПКС и сами экзосомы перспективным инструментом бесклеточной регенеративной терапии [24]. На основании этих свойств

экзосом ПКС и других прогениторных клеток известной американской ученый, многие годы работающий в области генной и клеточной терапии сердечно-сосудистых заболеваний, Дуглас Лосордо предложил свою гипотезу механизмов участия прогениторных клеток в регуляции регенеративных процессов в сердце [25]. Согласно этой гипотезе резидентные ПКС и другие прогениторные клетки в ответ на сигналы из поврежденных клеток сердца (растворимые факторы, экзосомы, апоптозные тела и пр.) могут усиливать высвобождение внеклеточных везикул, переносящих в кардиомиоциты регуляторные микроРНК, запускающие в них регенеративную программу — дедифференцировку с последующей пролиферацией. Новые незрелые кардиомиоциты образуют контакты с окружающими функционально зрелыми клетками, что индуцирует в них процесс редифференцировки. В этой схеме ПКС и другим прогениторным клеткам, принадлежит роль регуляторов и триггеров регенеративного процесса, который в конечном итоге реализуется через пролиферацию крайне ограниченного пула существующих кардиомиоцитов, а также клеток сосудов. Помимо этого, роль *c-kit*⁺ ПКС как предшественников сердечных эндотелиальных клеток [17] указывает на их значение для репаративного ангиогенеза — неотъемлемой части процессов репарации/регенерации сердца.

Другое объяснение существующему противоречию между показанной эффективностью ПКС при трансплантации и отсутствием у них кардиомиогенного потенциала дал известный американский профессор из Института молекулярной кардиологии Университета Луисвилля Роберто Болли [26]. Анализируя роль *c-kit*⁺ ПКС в развитии эмбрионального сердца, он обратил внимание на то, что в нем существуют несколько популяций *c-kit*⁺ клеток: в первичном сердечном поле эти клетки дают начало кардиомиоцитам развивающегося левого желудочка, а в проэпикарде они подвергаются эпителиально-мезенхимальному переходу и дифференцируются в ГМК сосудов, клетки эндотелия и фибробласты. Согласно выдвинутой им гипотезе в постнатальном сердце *c-kit*⁺ клетки — это мезенхимальные стволовые клетки (МСК), локализующиеся в эпикарде и субэпикарде. В пользу этого мнения говорит то, что *c-kit*⁺ клетки действительно обнаруживаются в эпикарде и несут на своей поверхности маркеры мезенхимальных клеток (CD105, CD90), а в индуцирующих средах они способны к характерным мезенхимальным дифференцировкам [27]. К тому же хорошо известно, что МСК других тканей также могут экспрессировать рецептор *c-kit*⁺ [28]. Результаты работ последних лет позволяют рассматривать эпикард как важнейший элемент эндогенного регенеративного резерва сердца и регулятор его формирования в эмбриональном периоде [29]. Клетки эмбриональ-

ного проэпикарда подвергаются эпителиально-мезенхимальному переходу и образуют эмбриональные мезенхимальные прогениторные клетки, часть из которых несет рецептор *c-kit*. Они участвуют в формировании кровеносных сосудов и стромы сердца, отвечая за компактизацию формирующегося миокарда. Во взрослом неповрежденном сердце эпикард представлен тонкой оболочкой, состоящей из мезотелия и плотно покрывающей миокард. При ишемическом повреждении сердца под влиянием факторов роста и цитокинов происходит активация эмбриональной программы в клетках эпикарда, они также подвергаются эпителиально-мезенхимальному переходу, пролиферируют и дифференцируются в гладкомышечные клетки сосудов, перичиты, миофибробласты, а также, возможно, в клетки эндотелия [29]. Помимо этого, важнейшим механизмом влияния эпикарда на репарацию сердца является секреция его активированными клетками биологически активных факторов, стимулирующих деление и подавляющих апоптоз кардиомиоцитов [30]. Такими факторами являются факторы роста фибробластов и фоллистатин подобный белок-1 (Fstl-1). По мнению Р. Болли *c-kit*⁺ клетки взрослого сердца являются именно клетками эпикарда, не обладают кардиомиогенными свойствами, но как резидентные МСК обладают регенеративными эффектами, обусловленными секреторной активностью и способностью к дифференцировкам в клетки сосудов.

Сегодня инициировано четыре небольших двойных слепых плацебоконтролируемых клинических исследования I-II фазы по оценке безопасности и эффективности внутрикоронарной трансплантации у больных с ишемической кардиомиопатией [31, 32] и инфарктом миокарда [33, 34] двух типов прогениторных клеток сердца: аутологичных *c-kit*⁺ ПКС, получаемых из ткани ушка правого предсердия [31], аутологичных клеток кардиосфер, получаемых из эндомикардиальной биопсии [32] и аллогенных *c-kit*⁺ ПКС и клеток кардиосфер [33, 34]. Результаты двух первых исследований продемонстрировали уменьшение области рубца, увеличение жизнеспособного миокарда, увеличение региональной сократимости. Однако увеличение общей фракции выброса показано только в исследовании с *c-kit*⁺ ПКС, на котором хотелось бы остановиться подробнее. У больных с постинфарктной сердечной недостаточностью ткань ушка правого предсердия получали во время АКШ, выделяли и культивировали *c-kit*⁺ клетки, и через 4 мес. больным с фракцией выброса менее 40% вводили в шунтированную артерию. Через год фракция выброса у этих больных возросла более, чем на 12%, уменьшилась симптоматика сердечной недостаточности. Однако, механизм их терапевтического эффекта оставался неясным, так как увеличение фракции выброса на 12% — это один из лучших

результатов при внутрикоронарном введении клеток больным с ишемической кардиомиопатией, но этот эффект наблюдался при трансплантации всего 1 млн клеток. Такое диспропорциональное улучшение функции сердца по отношению к количеству введенных клеток наводило на мысль о том, что введенные клетки оказывают эффект не через дифференцировку в кардиомиоциты, а через продукцию какого-то очень сильного индуктора регенеративной программы в оставшихся живых клетках миокарда. Первая статья по результатам этого исследования была отозвана в 2018г [31], но не Медицинской школой Гарварда, как все другие статьи группы Анверса, а их коллегами из Университета Луисвилля — группой профессора Роберто Болли. Причиной отзыва статьи указано то, что клинические члены команды не могут быть уверены в надежности той информации, которую они получили от группы Анверса по поводу клеток, поскольку клетки получали и характеризовали в лаборатории Анверса, а затем переправляли в клинику, где и осуществляли трансплантацию. Однако осталось абсолютно без анализа, что же это были за клетки, которые оказывали столь хороший клинический эффект. Более того, представляется странным то, что последующая статья по результатам этой работы, в которой с помощью магнитно-резонансной томографии с гадолинием исследовалась динамика функции миокарда и процент жизнеспособного миокарда, не была ими отозвана [35], хотя именно эта статья представила наиболее оптимистичные результаты внутрикоронарной клеточной терапии c-kit+ ПКС: увеличение фракции выброса левого желудочка через 4 мес. с 27,5% до 35,1%, а через год — до 41,2%; уменьшение размера инфаркта на 22,7% через 4 мес. и на 30,2% через 12 мес., а также значительное увеличение жизнеспособного миокарда. Если считать, что в клинической части работы все было безупречно, то необходим тщательный анализ и исследование причин столь ошеломительных результатов, чего пока не было сделано.

Обобщая изложенное выше необходимо отметить, что использование наиболее современных и адекватных методов прослеживания происхождения и судьбы клеток у мыши *in vivo* показало, что новые кардиомиоциты, образующиеся в процессе обновления клеток сердца в течение жизни или частичной регенерации после повреждения, происходят не из c-kit+ прогениторных клеток, получаемых из миокарда, а из пула существующих кардиомиоцитов путем их дедифференцировки, пролиферации и последующей редифференцировки. Интенсивность процесса обновления кардиомиоцитов низкая и не превышает 1% в год. Только крайне небольшая часть новых кардиомиоцитов (<0,01% в год), происходит из c-kit+ клеток сердца, что не позволяет считать их кардиомиогенными резидентными прогениторными клетками сердца,

вносящими существенный вклад в обновление и регенерацию кардиомиоцитов [36]. В то же время, из c-kit+ ПКС частично происходят новые клетки сосудов, что позволяет рассматривать их в качестве резидентных васкулогенных предшественников. Поскольку все исследования по определению происхождения новых кардиомиоцитов были основаны на маркировании локуса c-kit, они не могут распространяться на другие популяции клеток, выделяемых из миокарда и рассматриваемых в качестве резидентных прогениторных клеток сердца (Sca-1 клетки, клетки кардиосфер, islet-клетки). Для этого необходимы дополнительные исследования.

Помимо этого, необходимо четко разделять не получившие подтверждения взгляды на c-kit+ ПКС, как кардиомиогенные резидентные прогениторные клетки, и их регенеративные эффекты, показанные в экспериментальных работах различными научными группами. Эти эффекты, скорее всего, обусловлены паракринной активностью ПКС и их способностью высвобождать нановезикулы — экзосомы, содержащие уникальный набор регуляторных микроРНК, которые при попадании в другие клетки сердца индуцируют в них регенеративную программу. Сами экзосомы из различных типов ПКС представляют собой перспективный инструмент бесклеточной регенеративной терапии, которая привлекает все больше внимания врачей и ученых. Однако постулирование важности паракринной активности ПКС для их регенеративных эффектов поднимает естественный вопрос, насколько рационально использовать для клеточной терапии клетки, получаемые из миокарда, если они не обладают кардиомиогенным потенциалом, а реализуют свое действие за счет паракринных механизмов? Ведь существуют гораздо более легко доступные клетки, паракринные эффекты которых также стимулируют регенерацию. Таким клетками являются МСК, получаемые из различных тканей (костного мозга, жировой ткани, плаценты, пуповины и пр.). Ответ на этот вопрос может быть получен только в тщательных сравнительных исследованиях, которых на сегодняшний день пока немного. Однако существующие работы убедительно показали более высокую эффективность c-kit+ ПКС [37] и клеток кардиосфер [38], в сравнении с МСК, полученными из костного мозга и жировой ткани. Разумеется, для обоснования использования различных типов ПКС для клеточной терапии нужно больше сравнительных исследований, которые бы представили убедительные доказательства уникальных свойств этих клеток в сравнении с более доступными клетками других тканей. Необходимо также отметить, что совместная трансплантация МСК костного мозга и c-kit+ ПКС на моделях инфаркта у крысы [39] и свиньи [40] позволила значительно повысить выживаемость клеток после внутримиекардиальной транс-

плантации и повысить эффективность клеточной терапии за счет аддитивности паракринных эффектов двух типов прогениторных клеток. Повышение выживаемости клеток после введения в поврежденные ткани сердца является важнейшей целью следующего поколения клеточной терапии, т.к. недостаточно высокая эффективность первого поколения клеточной терапии, основанной на введении суспензии клеток в коронарные сосуды или в миокард, была обусловлена не столько отсутствием кардиомиогенного потенциала, сколько гибелью большей части клеток и их низкой приживаемостью после трансплантации [41]. Уже сам перевод клеток в суспензию путем обработки ферментами и последующее введение через иглу приводит к гибели части клеток. Последующее попадание клеток, лишенных межклеточных контактов, в неблагоприятное окружение поврежденной ткани способствует гибели большей части введенных клеток. Поэтому современные экспериментальные протоколы трансплантации клеток, включая ПКС, основаны на введении клеток в составе различных матриксов и гелей [42, 43] или в виде тканеинженерных конструкций — клеточных пластов, образованных клетками и наработанным ими внеклеточным матриксом или экзогенным матриксом [10, 43]. Это позволяет многократно увеличить выживаемость клеток и повысить эффективность клеточной терапии. Значительно повысить выживаемость клеток и их паракринные эффекты способны и раз-

личные способы предтрансплантационной подготовки клеток, включая их генетическую модификацию [44, 45]. Все эти методы активно разрабатываются в экспериментальных исследованиях сегодня, и дальнейшая трансляция наиболее эффективных технологий в клинические исследования, несомненно, позволит преодолеть скептицизм относительно клеточной терапии заболеваний сердца, возникший сегодня в связи с выявившейся фальсификацией работ по стволовым клеткам сердца группы Анверса и результатами первого поколения клеточной терапии заболеваний сердца, не показавшими ожидаемой эффективности. Перспективы воздействия на регенеративные процессы в сердце связывают и с использованием различных подходов, направленных на стимуляцию пролиферации кардиомиоцитов, включающие использование специфических микроРНК [46, 47], а также с использованием кардиомиоцитов, полученных из индуцированных плюрипотентных клеток [48] и с развитием технологий прямого репрограммирования фибробластов в кардиомиоциты [49, 50]. Однако анализ этих направлений не входил в задачи данного обзора.

Финансирование: работа поддержана грантом РФФ № 19-15-00384.

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Sylva M, van den Hoff MJ, Moorman AF. Development of the human heart. *Am J Med Genet A*. 2014 Jun;164A(6):1347-71. doi:10.1002/ajmg.a.35896.
- Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003 Sep 19;114(6):763-76. doi:10.1016/s0092-8674(03)00687-1.
- Urbanek K, Torella D, Sheikh F, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jun 14;102(24):8692-7. doi:10.1073/pnas.0500169102.
- Barile L, Messina E, Giacomello A, et al. Endogenous cardiac stem cells. *Prog Cardiovasc Dis*. 2007 Jul-Aug;50(1):31-48. doi:10.1016/j.pcad.2007.03.005.
- Bearzi C, Rota M, Hosoda T, et al. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Aug 28;104(35):14068-73. doi:10.1073/pnas.0706760104.
- Urbanek K, Rota M, Cascapera S, et al. Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that after activation regenerate the infarcted myocardium, improving ventricular function and long-term survival. *Circ Res*. 2005 Sep 30;97(7):663-73. doi: 10.1161/01.RES.0000183733.5310111.
- Linke A, Müller P, Nurzynska D, et al. Stem cells in the dog heart are self-renewing, clonogenic, and multipotent and regenerate infarcted myocardium, improving cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jun 21;102(25):8966-71. DOI: 10.1073/pnas.0502678102.
- Ellison GM, Torella D, Dellegrataglie, S et al. Endogenous cardiac stem cell activation by insulin-like growth factor-1/hepatocyte growth factor intracoronary injection fosters survival and regeneration of the infarcted pig heart. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Aug 23;58(9):977-86. doi:10.1016/j.jacc.2011.05.013.
- Cai CL, Molkentin JD. The elusive progenitor cell in cardiac regeneration: slip slidin' away. *Circ Res*. 2017;120:400-6. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.309710.
- Dergilev K, Tsokolaeva Z, Makarevich P, et al. C-Kit Cardiac Progenitor Cell Based Cell Sheet Improves Vascularization and Attenuates Cardiac Remodeling following Myocardial Infarction in Rats. *Biomed Res Int*. 2018 Jun 25;2018:3536854. doi:10.1155/2018/3536854.
- Zwetsloot PP, Végh AM, Jansen of Lorkeers SJ, et al. Cardiac Stem Cell Treatment in Myocardial Infarction: A Systematic Review and Meta-Analysis of Preclinical Studies. *Circ Res*. 2016 Apr 15;118(8):1223-32. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.307676.
- Kajstura J, Urbanek K, Perle S, et al. Cardiomyogenesis in the adult human heart. *Circ Res*. 2010 Jul 23;107(2):305-15. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.223024. Epub 2010 Jun 3. Retraction in: *Circ Res*. 2019 Feb 15;124(4):e22.
- Kajstura J, Rota M, Cappetta D, et al. Cardiomyogenesis in the aging and failing human heart. *Circulation*. 2012 Oct 9;126(15):1869-81. Retracted. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.18380.
- Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*. 2009 Apr 3;324(5923):98-102. doi:10.1126/science.1164680.
- Aquila I, Marino F, Cianflone E, et al. The use and abuse of Cre/Lox recombination to identify adult cardiomyocyte renewal rate and origin. *Pharmacol Res*. 2018 Jan;127:116-28. doi:10.1016/j.phrs.2017.06.012.
- Leri A, Rota M, Pasqualini FS, et al. Origin of cardiomyocytes in the adult heart. *Circ Res*. 2015 Jan 2;116(1):150-66. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.303595.
- Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. *Nature*. 2013;493:433-6. doi:10.1038/nature11682.
- van Berlo JH, Kanisicak O, Maillet M et al. c-kit+ cells minimally contribute cardiomyocytes to the heart. *Nature*. 2014;509:337-41. doi:10.1038/nature13309.
- Sultana N, Zhang L, Yan J, et al. Resident c-kit(+) cells in the heart are not cardiac stem cells. *Nat Commun*. 2015;6:8701. doi:10.1038/ncomms9701.
- Wang WE, Li L, Xia X, et al. Dedifferentiation, Proliferation, and Redifferentiation of Adult Mammalian Cardiomyocytes After Ischemic Injury. *Circulation*. 2017 Aug 29;136(9):834-48. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024307.
- Barile L, Milano G, Vassalli G. Beneficial effects of exosomes secreted by cardiac-derived progenitor cells and other cell types in myocardial ischemia. *Stem Cell Investig*. 2017;4:93. doi:10.21037/sci.2017.1.06.
- Xiao J, Pan Y, Li XH, et al. Cardiac progenitor cell-derived exosomes prevent cardiomyocytes apoptosis through exosomal miR-21 by targeting PDCD4. *Cell Death Dis*. 2016 Jun 23;7(6):e2277. doi:10.1038/cddis.2016.181.
- Ibrahim AG, Cheng K, Marbán E. Exosomes as critical agents of cardiac regeneration triggered by cell therapy. *Stem Cell Reports*. 2014 May 8;2(5):606-19. doi:10.1016/j.stemcr.2014.04.006.
- Mol EA, Goumans MJ, Sluijter JPG. Cardiac Progenitor-Cell Derived Exosomes as Cell-Free Therapeutic for Cardiac Repair. *Adv Exp Med Biol*. 2017;998:207-19. doi:10.1007/978-981-10-4397-0_14.

25. Sahoo S, Losordo DW. Exosomes and cardiac repair after myocardial infarction. *Circ Res*. 2014 Jan 17;114(2):333-44. doi:10.1161/CIRCRESAHA.114.300639.
26. Keith MC, Bolli R. "String theory" of c-kit(pos) cardiac cells: a new paradigm regarding the nature of these cells that may reconcile apparently discrepant results. *Circ Res*. 2015 Mar 27;116(7):1216-30. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.305557.
27. Gambini E, Pompilio G, Biondi A, et al. C-kit+ cardiac progenitors exhibit mesenchymal markers and preferential cardiovascular commitment. *Cardiovascular research*. 2011;89:362-73. doi:10.1093/cvr/cvq292.
28. Blazquez-Martinez A, Chiesa M, Arnalich F, et al. C-kit identifies a subpopulation of mesenchymal stem cells in adipose tissue with higher telomerase expression and differentiation potential. *Differentiation; research in biological diversity*. 2014;87:147-60. doi:10.1016/j.diff.2014.02.007.
29. Smits AM, Dronkers E, Goumans MJ. The epicardium as a source of multipotent adult cardiac progenitor cells: Their origin, role and fate. *Pharmacol Res*. 2018 Jan;127:129-40. doi:10.1016/j.phrs.2017.07.020.
30. Zhou B, Honor LB, He H, et al. Adult mouse epicardium modulates myocardial injury by secreting paracrine factors. *J Clin Invest*. 2011;121:1894-904. doi:10.1172/JCI45529.
31. Bolli R, Chugh AR, D'Amario D, et al. Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. *Lancet*. 2011;378:1847-57. Retracted. doi:10.1016/S0140-6736(11)61590-0.
32. Makkar RR, Smith RR, Cheng K, et al. Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet*. 2012;379:895-904.
33. Chakravarty T, Makkar RR, Ascheim DD, et al. ALLogeneic Heart Stem Cells to Achieve Myocardial Regeneration (ALLSTAR) Trial: Rationale and Design. *Cell Transplant*. 2017 Feb 16;26(2):205-14. doi:10.3727/096368916X692933.
34. Sanz-Ruiz R, Casado Plasencia A, Borlado LR, et al. Rationale and Design of a Clinical Trial to Evaluate the Safety and Efficacy of Intracoronary Infusion of Allogeneic Human Cardiac Stem Cells in Patients With Acute Myocardial Infarction and Left Ventricular Dysfunction: The Randomized Multicenter Double-Blind Controlled CAREMI Trial (Cardiac Stem Cells in Patients With Acute Myocardial Infarction). *Circ Res*. 2017 Jun 23;121(1):71-80. doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.310651.
35. Chugh AR, Beache GM, Loughran JH, et al. Administration of cardiac stem cells in patients with ischemic cardiomyopathy: the SCIPIO trial: surgical aspects and interim analysis of myocardial function and viability by magnetic resonance. *Circulation*. 2012 Sep 11;126(11 Suppl 1):S54-64. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.092627.
36. Eschenhagen T, Bolli R, Braun T, et al. Cardiomyocyte Regeneration: A Consensus Statement. *Circulation*. 2017 Aug 15;136(7):680-6. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029343.
37. Oskoueï BN, Lamirault G, Joseph C, et al. Increased potency of cardiac stem cells compared with bone marrow mesenchymal stem cells in cardiac repair. *Stem Cells Transl Med*. 2012 Feb;1(2):116-24. doi:10.5966/sctm.2011-0015.
38. Li TS, Cheng K, Malliaras K, et al. Direct comparison of different stem cell types and subpopulations reveals superior paracrine potency and myocardial repair efficacy with cardiosphere-derived cells. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Mar 6;59(10):942-53. doi:10.1016/j.jacc.2011.11.029.
39. Bao L, Meng Q, Li Y, et al. C-Kit Positive Cardiac Stem Cells and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Synergistically Enhance Angiogenesis and Improve Cardiac Function After Myocardial Infarction in a Paracrine Manner. *J Card Fail*. 2017 May;23(5):403-15. doi:10.1016/j.cardfail.2017.03.002.
40. Williams AR, Hatzistergos KE, Addicott B, et al. Enhanced effect of combining human cardiac stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells to reduce infarct size and to restore cardiac function after myocardial infarction. *Circulation*. 2013 Jan 15;127(2):213-23. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.131110.
41. Aguado BA, Mulyasmita W, Su J, et al. Improving viability of stem cells during syringe needle flow through the design of hydrogel cell carriers. *Tissue Eng A*. 2012;18:806-15. doi:10.1089/ten.TEA.2011.0391.
42. Fan Z, Xu Z, Niu H, et al. An Injectable Oxygen Release System to Augment Cell Survival and Promote Cardiac Repair Following Myocardial Infarction. *Sci Rep*. 2018 Jan 22;8(1):1371. doi:10.1038/s41598-018-19906-w.
43. Madonna R, Van Laake LW, Botker HE, et al. ESC Working Group on Cellular Biology of the Heart: position paper for Cardiovascular Research: tissue engineering strategies combined with cell therapies for cardiac repair in ischaemic heart disease and heart failure. *Cardiovasc Res*. 2019 Mar 1;115(3):488-500. doi:10.1093/cvr/cvz010.
44. Mohsin S, Khan M, Nguyen J, et al. Rejuvenation of human cardiac progenitor cells with Pim-1 kinase. *Circ Res*. 2013 Oct 25;113(10):1169-79. doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.302302.
45. Zhang LX, DeNicola M, Qin X, et al. Specific inhibition of HDAC4 in cardiac progenitor cells enhances myocardial repairs. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2014 Aug 15;307(4):C358-72. doi:10.1152/ajpcell.00187.2013.
46. Eulalio A, Mano M, Dal Ferro M, et al. Functional screening identifies miRNAs inducing cardiac regeneration. *Nature*. 2012 Dec 20;492(7429):376-81. doi:10.1038/nature11739.
47. Lesizza P, Prosdocimo G, Martinelli V, et al. Single-Dose Intracardiac Injection of Pro-Regenerative MicroRNAs Improves Cardiac Function After Myocardial Infarction. *Circ Res*. 2017 14;120(8):1298-304. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.309589.
48. Rojas SV, Kensah G, Rotaermel A, et al. Transplantation of purified iPSC-derived cardiomyocytes in myocardial infarction. *PLoS One*. 2017 May 11;12(5):e0173222. doi:10.1371/journal.pone.0173222.
49. Kurotsu S, Suzuki T, Ieda M. Direct Reprogramming, Epigenetics, and Cardiac Regeneration. *J Card Fail*. 2017;23(7):552-7. doi:10.1016/j.cardfail.2017.05.009.
50. Werner JH, Rosenberg JH, Um JY, et al. Molecular discoveries and treatment strategies by direct reprogramming in cardiac regeneration. *Transl Res*. 2019 Jan;203:73-87. doi:10.1016/j.trsl.2018.07.012.