

## Стволовые клетки сердца: надежда или миф?

Докшин П. М.<sup>1</sup>, Малашичева А. Б.<sup>1,2</sup>

Поиск и изучение механизмов эндогенного восстановления сердечной мышцы остаётся актуальным вопросом современной регенеративной медицины. Согласно общепринятым представлениям, сердце человека имеет ограниченный регенеративный потенциал, но исследования последних лет показывают, что функционально значимая регенерация возможна. Однако механизмы, лежащие в основе данных процессов, остаются малоизученными. В сердце встречаются популяции резидентных мезенхимных клеток, обладающих некоторыми свойствами стволовых клеток, несущих определенные маркеры, такие как c-kit<sup>+</sup>, Sca-1 и другие. Способность данных клеток дифференцироваться напрямую в кардиомиоциты остаётся спорным вопросом, но их использование в клинических испытаниях показало улучшение сердечной функции у пациентов, перенесших инфаркт миокарда. В настоящее время разрабатываются подходы по использованию, в основном, индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в качестве перспективной восстановительной терапии, но кардиопротективная роль мезенхимных клеток сердца остаётся предметом активного изучения, благодаря их паракринной сигнализации.

**Ключевые слова:** клеточная терапия, регенерация миокарда, мезенхимные клетки сердца, инфаркт миокарда, кардиомиопатии.

**Отношения и деятельность.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-015-00574.

<sup>1</sup>ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия.

Докшин П. М.\* — м.н.с. НИЛ молекулярной кардиологии и генетики, Институт молекулярной биологии и генетики, ORCID: 0000-0002-0182-009X, Малашичева А. Б. — зав. лабораторией регенеративной биомедицины, ORCID: 0000-0002-0820-2913.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):  
[pdocshin@icloud.com](mailto:pdocshin@icloud.com)

СКС — стволовые клетки сердца.

Рукопись получена 15.10.2021

Рецензия получена 21.10.2021

Принята к публикации 25.10.2021



**Для цитирования:** Докшин П. М., Малашичева А. Б. Стволовые клетки сердца: надежда или миф? *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(10):4749. doi:10.15829/1560-4071-2021-4749

## Heart stem cells: hope or myth?

Dokshin P. M.<sup>1</sup>, Malashicheva A. B.<sup>1,2</sup>

The search and study of endogenous heart repair remains an urgent issue in modern regenerative medicine. It is generally accepted that the human heart has a limited regenerative potential, but recent studies show that functionally significant regeneration is possible. However, the mechanisms underlying these processes remain poorly understood. In the heart, there are populations of resident mesenchymal cells that have some properties of stem cells that carry certain markers, such as c-kit<sup>+</sup>, Sca-1, etc. The ability of these cells to differentiate directly into cardiomyocytes remains controversial, but their use in clinical trials has shown improved cardiac function in patients with myocardial infarction. Currently, approaches are being developed to use, mainly, induced pluripotent stem cells as a promising regenerative therapy, but the cardioprotective role of cardiac mesenchymal cells remains the subject of active study due to their paracrine signaling.

**Keywords:** cell therapy, myocardial regeneration, cardiac mesenchymal cells, myocardial infarction, cardiomyopathies.

**Relationships and Activities.** The research was financially supported by the RFBR grant № 20-015-00574.

<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg; <sup>2</sup>Institute of Cytology, St. Petersburg, Russia.

Dokshin P. M.\* ORCID: 0000-0002-0182-009X, Malashicheva A. B. ORCID: 0000-0002-0820-2913.

\*Corresponding author: [pdocshin@icloud.com](mailto:pdocshin@icloud.com)

**Received:** 15.10.2021 **Revision Received:** 21.10.2021 **Accepted:** 25.10.2021

**For citation:** Dokshin P. M., Malashicheva A. B. Heart stem cells: hope or myth? *Russian Journal of Cardiology*. 2021;26(10):4749. doi:10.15829/1560-4071-2021-4749

До сих пор “мышечные болезни сердца” занимают лидирующее положение среди сердечно-сосудистых заболеваний, зачастую приводящих к утрате и изменению клеточного состава миокарда и необратимым изменениям в структуре и функции самого органа. В настоящее время причины развития данного рода патологий подразделяют на коронарогенные и некоронарогенные заболевания миокарда. В первой группе, например, происходит окклюзия коронарных артерий, приводящая к развитию ишемической болезни серд-

ца. Последняя же группа является более разнородной, к которой причисляют остальные болезни сердечной мышцы, не связанные с поражением коронарных артерий, в т.ч. врожденные и приобретённые пороки сердца и другие состояния, приводящие к вторичной перегрузке миокарда [1], например, кардиомиопатии. Волнующим вопросом остаётся поиск и изучение механизмов эндогенного восстановления сердечной мышцы в качестве перспективного терапевтического подхода на смену заместительным терапиям.

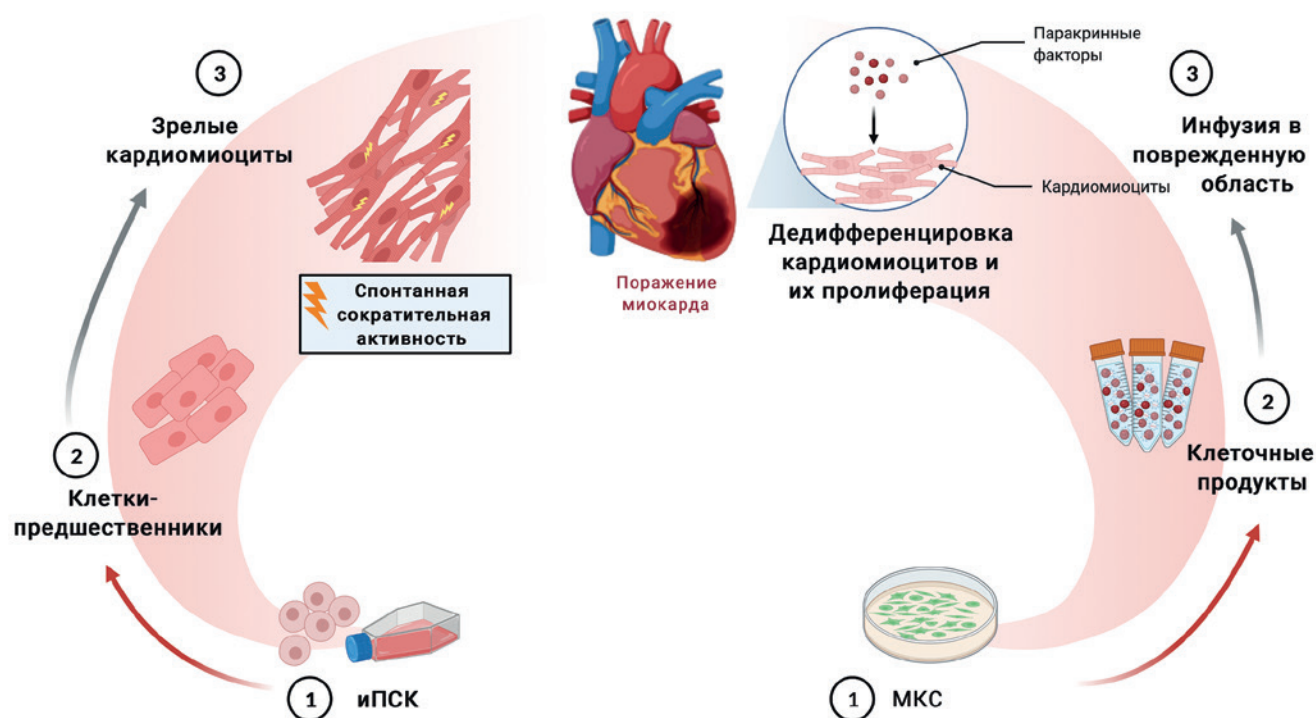


Рис. 1. Возможные подходы в восстановительной терапии миокарда. Created with BioRender.com.

Сокращения: иПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, МКС — стромальные мезенхимальные клетки.

Имеет ли сердце человека способность к регенерации, остаётся открытым вопросом. Существующие представления многократно оспаривались и подвергались критике [2, 3]. Одни из первых наблюдений процессов гиперплазии клеток сердца были представлены Павлом Павловичем Румянцевым на моделях лягушек и мышей и обобщены в его монографии [4]. Это послужило, в т.ч., началом рассмотрения и активного изучения возможных регенеративных механизмов в сердце млекопитающих, в частности, человека.

Согласно общепринятым представлениям, сердце человека имеет ограниченный регенеративный потенциал. Имеются сведения, что у взрослых людей может происходить образование кардиомиоцитов *de novo*, но с незначительной скоростью, примерно 0,5-1% в год по разным оценкам [5, 6]. Тем не менее имеются данные о более значимой регенерации на примере новорожденных мышей, сердце которых обладало истинным кардиомиогенным потенциалом за счёт активной пролиферации кардиомиоцитов после повреждения [7-9]. Причём данная способность сохраняется только в течение первой недели жизни, после чего происходит явный переход от регенерации к формированию фиброза, что является типичным признаком реакции заживления раны сердца взрослого человека [10]. Не так давно была продемонстрирована функциональная регенерация сердца у человека в уникальном случае, когда у новорожден-

ного ребенка, перенесшего тяжелую ишемию вследствие окклюзии коронарной артерии, наблюдалось восстановление миокарда в течение нескольких недель за счёт предполагаемого механизма регенерации [11].

В настоящее время большинство дискуссий в литературе сводятся скорее к изучению скорости обновления кардиомиоцитов в нормальном и поврежденном сердце взрослых животных, нежели к констатации факта существования самих процессов. Например, значения активности клеточного цикла кардиомиоцитов желудочка сердца у взрослых крыс варьировали от 0 до 3,15% [12]. Это может быть связано с разными методологическими подходами, которые использовались для оценки клеточного цикла, так, например, анализ скорости синтеза ДНК в кардиомиоцитах (включение тимидина, меченного тритием или бромдезоксимуридином) будет заведомо показывать более высокую скорость обновления ввиду более продолжительной S-фазы. Соответственно, другие методы, анализирующие наличие клеточных делений по цитологическим препаратам, будут давать чуть меньшие значения пролиферации.

Другим недостатком в методологии подсчета количества клеточных делений является точность определения самих кардиомиоцитов и непосредственно их ядер. Использование конфокальной микроскопии и визуализация с помощью иммунной флуоресценции цитоплазматических маркеров, таких как тро-

понин Т, по определению должно было быть точной методикой для идентификации ядер кардиомиоцитов на срезах тканей [13]. В результате же разрешение конфокальной микроскопии по оси Z было недостаточным для изучения рядом расположенных клеток на расстоянии <0,5 микрометров, что не давало возможности в точности определить ядро какой именно клетки здесь расположено. Это важное замечание ввиду того, что кардиомиоциты составляют лишь 20% от общего числа клеток сердца [12].

Ещё одним очень значимым событием в изучении регенеративного потенциала сердца послужило открытие резидентных стромальных мезенхимных клеток, которые получили название сердечные клетки-предшественники или стволовые клетки сердца (СКС). Впервые СКС были описаны в 2003г, когда они были выделены из ткани миокарда и были способны к пролиферации в культуре, и даже могли приобретать некоторые фенотипические признаки кардиомиоцитов и экспрессировать маркер c-kit при добавлении специфических факторов в среду [14]. За последние 20 лет были идентифицированы и описаны различные популяции СКС, которые активно пролиферировали в культуре и имели маркеры стволовых клеток, таких как c-kit, Sca-1 и другие. Материалом для выведения данных клеток мог послужить участок ткани, полученный во время операции на сердце или эндокардиальной биопсии [15]. Некоторые популяции СКС обладали некой степенью пластичности и при культивировании и добавлении специфических факторов они приобретали определенные маркеры сосудов и даже кардиомиоцитов [16-18], что может указывать на их малодифференцированное состояние при нахождении в ткани миокарда [19]. Это стало причиной для их рассмотрения в качестве клеток-предшественников с кардиомиогенным потенциалом. Однако в ряде независимых исследований удалось показать, что возможность дифференцировки данных клеток напрямую в кардиомиоциты или клетки сосудов сильно огра-

ничена [20-24]. Кроме того, большинство публикаций Пьерро Анверзы и его группы, являющихся в некотором роде первооткрывателями СКС, несущих маркер c-kit<sup>+</sup>, были отозваны [25].

Тем не менее, некоторые популяции СКС использовались в нескольких клинических исследованиях в качестве клеточной терапии у пациентов, перенесших инфаркт миокарда [26]. Например, в испытаниях “CADUCEUS” и “ALLSTAR” применялись аутологичные и аллогенные клетки, полученные из кардиосфер, и результаты показали, что использование данных клеток является безопасным и способствует в некоторой степени улучшению жизнеспособной массы сердца и увеличению сократимости миокарда у пациентов после ИМ и с дисфункцией левого желудочка [27-29]. Исходя из этого можно судить о том, что данные клетки могут поспособствовать улучшению сердечной функции, но, скорее всего, это происходит не посредством прямой кардиомиогенной дифференцировки.

В настоящее время большинство текущих исследований по разработке терапевтических подходов в регенерации сердца направлено всё же на развитие методов направленной дифференцировки в кардиомиоциты, но скорее из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, чем из СКС [25, 30-35]. Несмотря на это, можно с уверенностью утверждать, что в сердце существуют особые популяции клеток, которые возможно выделить из ткани миокарда и вывести в культуру, и на сегодняшний день их принято называть “интерстициальными” или “мезенхимными” клетками сердца [16]. Есть целый ряд исследований, в которых было показано, что данные клетки обладают позитивным паракринным эффектом на пораженный миокард [16], но молекулярные механизмы, лежащие в основе этих изменений, ещё остаются не изученными (рис. 1).

**Отношения и деятельность.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-015-00574.

## Литература/References

1. Blagova OV, Nedostup AV. Classification of non-coronary heart diseases. Point of view. Russ J Cardiol. 2017;(2):7-21. (In Russ.) Благова О.В., Недоступ А.В. Классификация некоронарогенных заболеваний сердца: наш взгляд на проблему. Российский кардиологический журнал. 2017;(2):7-21. doi:10.15829/1560-4071-2017-2-7-21.
2. Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Myocyte death, growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure. Circ Res. 2003;92(2):139-50. doi:10.1161/01.RES.0000053618.86362.DF.
3. Uygur A, Lee RT. Mechanisms of Cardiac Regeneration. Dev Cell. 2016;36(4):362-74. doi:10.1016/j.devcel.2016.01.018.
4. Romyantsev PP. Grwth Hyperplasia Card Muscle. ISBN: 9781315076652. Published online 1991. doi:10.4324/9781315076652.
5. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. Science. 2009;324(5923):98-102. doi:10.1126/science.1164680.
6. Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. Nature. 2013;493(7432):433-6. doi:10.1038/nature11682.
7. Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. Science. 2011;331(6020):1078-80. doi:10.1126/science.1200708.
8. Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al. Regulation of neonatal and adult mammalian heart regeneration by the miR-15 family. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(1):187-92. doi:10.1073/pnas.1208863110.
9. Mahmoud AI, Porrello ER, Kimura W, et al. Surgical models for cardiac regeneration in neonatal mice. Nat Protoc. 2014;9(2):305-11. doi:10.1038/nprot.2014.021.
10. Aurora AB, Porrello ER, Tan W, et al. Macrophages are required for neonatal heart regeneration. J Clin Invest. 2014;124(3):1382-92. doi:10.1172/JCI72181.
11. Haubner BJ, Schneider J, Schweigmann U, et al. Functional Recovery of a Human Neonatal Heart after Severe Myocardial Infarction. Circ Res. 2016;118(2):216-21. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.307017.
12. Soonpaa MH, Rubart M, Field LJ. Challenges measuring cardiomyocyte renewal. Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res. 2013;1833(4):799-803. doi:10.1016/j.bbamcr.2012.10.029.
13. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. Physiol Rev. 2005;85(4):1373-416. doi:10.1152/physrev.00013.2005.
14. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. Cell. 2003;114(6):763-76. doi:10.1016/S0092-8674(03)00687-1.

15. Bollini S, Smart N, Riley PR. Resident cardiac progenitor cells: At the heart of regeneration. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;50(2):296-303. doi:10.1016/j.yjmcc.2010.07.006.
16. Gude NA, Sussman MA. Cardiac regenerative therapy: Many paths to repair. *Trends Cardiovasc Med.* 2020;30(6):338-43. doi:10.1016/j.tcm.2019.08.009.
17. Zhou B, Ma Q, Rajagopal S, et al. Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart. *Nature.* 2008;454(7200):109-13. doi:10.1038/nature07060.
18. Docshin PM, Karpov AA, Eyzavova SD, et al. Activation of Cardiac Stem Cells in Myocardial Infarction. *Tsitologiya.* 2018;60(2):81-8. doi:10.31116/tsitol.2018.02.02.
19. Lepilina A, Coon AN, Kikuchi K, et al. A Dynamic Epicardial Injury Response Supports Progenitor Cell Activity during Zebrafish Heart Regeneration. *Cell.* 2006;127(3):607-19. doi:10.1016/j.cell.2006.08.052.
20. Sultana N, Zhang L, Yan J, et al. Resident c-kit(+) cells in the heart are not cardiac stem cells. *Nat Commun.* 2015;6(1):8701. doi:10.1038/ncomms9701.
21. Kanisicak O, Vagnozzi RJ, Molkentin JD. Identity crisis for regenerative cardiac cKit<sup>+</sup> cells. *Circ Res.* 2017;121(10):1130-2. doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.311921.
22. Li Y, He L, Huang X, et al. Genetic lineage tracing of nonmyocyte population by dual recombinases. *Circulation.* 2018;138(8):793-805. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034250.
23. Tang J, Li Y, Huang X, et al. Fate mapping of Sca1<sup>+</sup> cardiac progenitor cells in the adult mouse heart. *Circulation.* 2018;138(25):2967-9. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036210.
24. Zhang L, Sultana N, Yan J, et al. Cardiac Sca-1<sup>+</sup> cells are not intrinsic stem cells for myocardial development, renewal, and repair. *Circulation.* 2018;138(25):2919-30. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035200.
25. Chien KR, Frisén J, Fritsche-Danielson R, et al. Regenerating the field of cardiovascular cell therapy. *Nat Biotechnol.* 2019;37(3):232-7. doi:10.1038/s41587-019-0042-1.
26. Docshin PM, Bairqdar A, Malashicheva AB. Current status, challenges and perspectives of mesenchymal stem cell-based therapy for cardiac regeneration. *Complex Issues Cardiovasc Dis.* 2021;10(3):72-8. doi:10.17802/2306-1278-2021-10-3-72-78.
27. Huang GN, Thatcher JE, McAnally J, et al. C/EBP transcription factors mediate epicardial activation during heart development and injury. *Science.* 2012;338(6114):1599-603. doi:10.1126/science.1229765.
28. 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(9819):895-904. doi:10.1016/S0140-6736(12)60195-0.
29. Chakravarty T, Makkar RR, Ascheim DD, et al. ALLogeneic heart Stem cells to achieve myocardial regeneration (ALLSTAR) trial: Rationale and design. *Cell Transplant.* 2017;26(2):205-14. doi:10.3727/096368916X692933.
30. Cahill TJ, Choudhury RP, Riley PR. Heart regeneration and repair after myocardial infarction: Translational opportunities for novel therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2017;16(10):699-717. doi:10.1038/nrd.2017.106.
31. Eschenhagen T, Bolli R, Braun T, et al. Cardiomyocyte regeneration: A consensus statement. *Circulation.* 2017;136(7):680-6. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029343.
32. Wang WE, Li L, Xia X, et al. Dedifferentiation, proliferation, and redifferentiation of adult mammalian cardiomyocytes after ischemic injury. *Circulation.* 2017;136(9):834-48. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024307.
33. He L, Nguyen NB, Ardehali R, Zhou B. Heart regeneration by endogenous stem cells and cardiomyocyte proliferation: Controversy, fallacy, and progress. *Circulation.* 2020;142(3):275-91. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.045566.
34. Maghin E, Garbati P, Quarto R, et al. Young at Heart: Combining Strategies to Rejuvenate Endogenous Mechanisms of Cardiac Repair. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8. doi:10.3389/fbioe.2020.00447.
35. Vujic A, Natarajan N, Lee RT. Molecular mechanisms of heart regeneration. *Semin Cell Dev Biol.* 2020;100:20-8. doi:10.1016/j.semcdb.2019.09.003.