

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние интрамиокардиальной аутотрансплантации клеток костного мозга на перфузию ишемизированного миокарда в эксперименте

А.А. Матюков

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

A.A. Matyukov

Effect of Bone Marrow Cell Intramyocardial Autotransplantation upon Perfusion of Ischemic Myocardium in Experiment

Saint-Petersburg State Pavlov Medical University

В работе представлены результаты изучения влияния аутологичной интрамиокардиальной трансплантации мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) костного мозга и ядросодержащей фракции костного мозга на перфузию ишемизированного миокарда кролика. Инфаркт миокарда моделировался путем лигирования нисходящей ветви левой коронарной артерии. Оценку перфузии миокарда проводили методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с использованием радиофармацевтического препарата (РФП) ^{99m}Tc -тетрафосмина (Myoview) перед моделированием инфаркта миокарда и спустя 10 суток, 1,5 месяца, 3 месяца, 6 и 12 месяцев. Были сформированы три группы животных: 1 группа ($n=12$), которым в ишемизированную зону вводились ММСК костного мозга (2×10^6), 2 группа ($n=14$) – вводилась ядросодержащая фракция костного мозга (2×10^6) и 3 группа ($n=15$, контрольная), которым вводилась ростовая среда.

У всех животных 1-й и 2-й групп через 1,5 месяца после операции отмечалось значительное улучшение перфузии. Средние значения накопления РФП составили $0,92 \pm 0,03$ и $0,89 \pm 0,03$, соответственно. В контрольной группе – $0,62 \pm 0,02$. К 3 месяцам после операции полная нормализация перфузии отмечалась в опытных группах, где уровень накопления РФП составил $1,00 \pm 0,02$ и $0,98 \pm 0,01$, тогда как в контрольной группе этот показатель не увеличился и равнялся $0,61 \pm 0,01$. Показатели равномерности перфузии в патологической и референтной зонах на 10-е сутки после операции составили: в 1-й группе – $2,7 \pm 0,2$ и $2,1 \pm 0,2$; во 2-й – $2,6 \pm 0,2$ и $1,8 \pm 0,3$; в контрольной – $2,8 \pm 0,3$ и $2,1 \pm 0,1$. Через 3 месяца после моделирования инфаркта в 1-ой и 2-ой группах эти значения достоверно не отличались ($1,9 \pm 0,2$; $2,0 \pm 0,1$ и $2,1 \pm 0,1$; $2,0 \pm 0,2$); в контрольной группе неравномерность перфузии значительно выросла и составила $3,5 \pm 0,2$ в пораженном сегменте по отношению к $2,0 \pm 0,1$ в интактном сегменте.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, мультипотентные мезенхимные стромальные клетки, перфузия миокарда, однофотонная эмиссионная компьютерная томография.

Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) представляет собой широко распространенное заболевание и является основной причиной смертности в большинстве промышленно развитых стран мира [1]. Необратимое повреждение кардиомиоцитов и сосудистых структур вследствие ишемии миокарда приводит к нарушению функции сердца и, в конечном итоге, сердечной недостаточности. Используемые в настоящее время для лечения ишемии миокарда консервативные и оперативные методы не всегда эффективны или не могут быть применены по ряду причин [2]. В связи с этим разрабатываются новые способы влияния на регенерацию пораженного миокарда на основе современных достижений молекулярной и клеточной биологии. Так, в последние 5–7 лет успешно реализуется

The article presents results of investigation into comparative evaluation of the effects of autologous intramyocardial transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells taken from bone marrow and of mononuclear bone marrow fraction upon perfusion of a rabbit ischemic myocardium. Myocardial infarction was simulated by means of ligation of the left coronary artery descending branch. Myocardium perfusion was evaluated with single-photon emission computed tomography with the application of a radiopharmaceutical drug (RPD) ^{99m}Tc -tetraphosphine (Myoview) prior to the simulation of myocardial infarction and in 10 days, 1.5 months, 3, 6 and 12 months. The animals were divided into three groups: the 1st group ($n=12$) included animals whom multipotent mesenchymal bone marrow stromal cells were introduced into the ischemic zone (2×10^6); in the 2nd group ($n=14$) mononuclear bone marrow fraction was introduced (2×10^6); and the 3rd group ($n=15$, control) where growth medium was used.

In all the animals of the 1st and 2nd groups, considerable improvement of perfusion was observed in 1.5 months following the operation. Mean values of the RPD accumulation were 0.92 ± 0.03 and 0.89 ± 0.031 respectively. In the control group this value was 0.62 ± 0.02 . By the third month following the operation complete normalizing of perfusion occurred in the experimental groups with the RPD accumulation level of 1.00 ± 0.02 and 0.98 ± 0.01 , whereas this parameter did not increase in the control group and was 0.61 ± 0.01 . On the 10th day after the operation the perfusion evenness parameters in pathologic and reference zones were as follows: in the 1st group – 2.7 ± 0.2 and 2.1 ± 0.2 ; in the 2nd group – 2.6 ± 0.2 and 1.8 ± 0.3 ; in the controls – 2.8 ± 0.3 and 2.1 ± 0.1 . In 3 months after the infarction simulation these values did not significantly differ in the 1st and 2nd groups (1.9 ± 0.2 ; 2.0 ± 0.1 and 2.1 ± 0.1 ; 2.0 ± 0.2); in the controls the unevenness of perfusion increased considerably and amounted up to 3.5 ± 0.2 in the damaged segment as compared with 2.0 ± 0.1 in the intact one.

Key words: myocardial infarction, multipotent stromal cells, mononuclear cells, bone marrow, autologous transplantation, perfusion of myocardium, single-photon emission computed tomography.

идея клеточной трансплантации для лечения ИБС. При этом многообещающим стал метод трансплантации клеток с целью замещения некротизированного миокарда вновь образованными кардиомиоцитами и стимуляции неоангиогенеза [3, 4]. Однако многие вопросы в этой области медицины остаются нерешенными и требуют дальнейшего исследования. Одним из них является вопрос о наиболее эффективном типе клеток для стимуляции ангиогенеза. В эксперименте на модели острого инфаркта миокарда было предложено использовать различные типы клеток для стимуляции неоангиогенеза в ишемизированной зоне: гемопоэтические стволовые клетки [5], эндотелиальные прогениторные клетки пуповинной крови [6], эндотелиальные прогениторные клетки, мобилизованные

в периферический кровоток [7], эндотелиальные прогениторные клетки костного мозга [8], ядросодержащие клетки (ЯСК) костного мозга [9] и периферической крови [10], мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (ММСК) костного мозга [11]. Из всего многообразия используемых типов клеток наиболее перспективным является трансплантация аутогенных клеток в связи с отсутствием необходимости иммуносупрессивной терапии, которая обычно требуется после трансплантации эмбриональных и фетальных клеток, а также в связи с отсутствием этических и юридических проблем. Данные литературы свидетельствуют, что в настоящее время среди аутогенного клеточного материала чаще всего используются ядросодержащая фракция костного мозга и ММСК костного мозга [12]. Однако экспериментальных работ по сравнительной эффективности трансплантации этих клеток мало, а полученные результаты противоречивы.

Большинство экспериментальных работ по изучению влияния трансплантации клеток на репарацию миокарда выполнялись на модели инфаркта миокарда у мелких грызунов, которые, как известно, обладают выраженными адаптивными способностями, что, с нашей точки зрения, не позволяет достоверно оценить эффект от проводимой терапии [13].

Для моделирования инфаркта в эксперименте используются разнообразные способы воздействия на миокард: низкие и высокие температуры, лазер, токсины, фармакологические препараты и т. п. [14]. К сожалению, эти способы не позволяют в полной мере воспроизвести ситуацию, возникающую в клинике. Достаточно точно данный патологический процесс удастся имитировать путем перевязки коронарной артерии.

Для оценки эффективности влияния трансплантации клеток на кровоснабжение ишемизированного миокарда применяются различные методы. В настоящее время золотым стандартом в оценке уровня перфузии и метаболизма миокарда являются однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионная томография. Использование этих методов в эксперименте представляется весьма привлекательным, однако зачастую из-за величины изучаемого объекта получаемое разрешение не позволяет проводить оценку данных [15].

Кроме того, для определения эффективности и безопасности трансплантации клеток важно проводить оценку результатов не только в ближайшие, но и в отдаленные сроки. Однако большинство исследований отражает оценку результатов в среднем до полугода, а результаты на более поздних

сроках представлены единичными сообщениями [12].

Цель работы – оценить влияние аутогенной трансплантации клеток костного мозга на перфузию миокарда у кроликов после инфаркта, моделированного путем коронароокклюзии, с использованием метода ОФЭКТ на разных сроках.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на кроликах-самцах линии Шиншилла массой 2,7–3,0 кг. Возраст животных к началу эксперимента составлял 3–4 месяца.

1. Выделение, культивирование и характеристика полученных клеток

В работе использовали культуру ММСК и ЯСК, полученные из аспирата костного мозга.

Аспират костного мозга получали путем пункции крыла подвздошной кости после премедикации (дроперидол 0,5 мг/кг, ксилазин 14 мг/кг) под местным обезболиванием 0,5% раствором новокаина. Аспират в количестве 10 мл помещали в пробирку, содержащую антикоагулянт CPDS (citrate phosphate dextrose solution). Полученный костный мозг фракционировали с помощью центрифугирования (1600g, 20 мин) в градиенте плотности Перколла (63%). Образовавшееся интерфазное кольцо с ЯСК костного мозга промывали в растворе Хенкса без Ca^{2+} и Mg^{2+} и осаждали центрифугированием. Осадок суспендировали в среде α MEM и использовали либо для дальнейшего культивирования, либо для трансплантации без культивирования.

Жизнеспособность ЯСК костного мозга определяли в камере Горяева с помощью окраски трипановым синим.

Клетки культивировали в среде α MEM (ISN, США) с 10% сыворотки эмбрионов коров (Nucclone, Новая Зеландия) и гентамицина сульфата (50 мкг/мл) в CO_2 -инкубаторе при 5% концентрации углекислого газа. Смену среды производили через каждые трое суток. После первой смены среды в нее добавляли аскорбиновую кислоту (50 мкг/мл). Клетки, достигшие субконфлюэнтного состояния, пересеивали при помощи раствора трипсина и ЭДТА (Gibco, США).

Характеристику клеточных культур проводили путем окрашивания стандартной смесью реактивов BCIP-NBT (Sigma, США) на щелочную фосфатазу (ЩФ) для идентификации клеток остеогенной дифференцировки и суданом-III (BDH Chemicals Ltd, Англия) для идентификации клеток адипоцитарной дифференцировки.

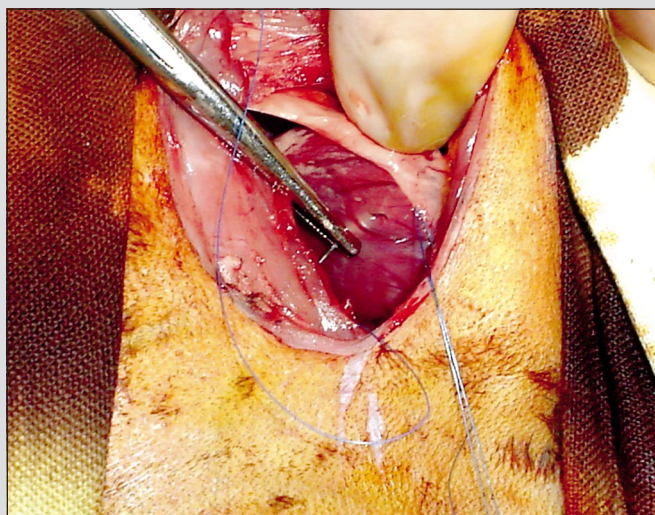


Рис. 1. Лигирование передней нисходящей ветви левой коронарной артерии

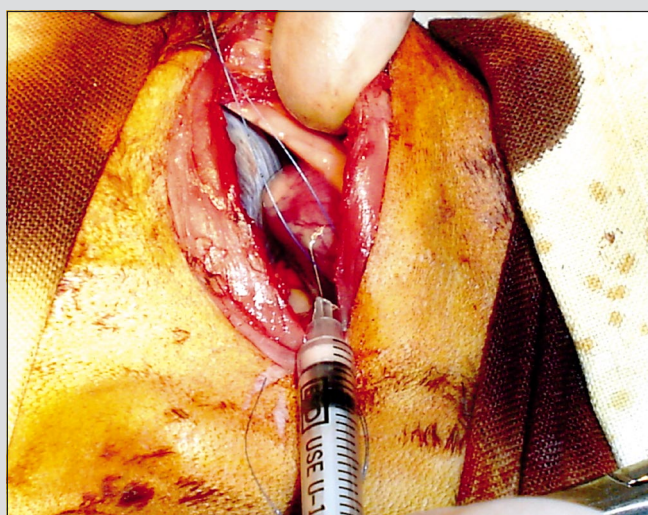


Рис. 2. Введение клеток в ишемизированную зону миокарда левого желудочка

2. Моделирование инфаркта миокарда

Для моделирования инфаркта миокарда кроликам после премедикации (дроперидол 0,5 мг/кг, метацин 0,8 мг/кг) и эндотрахеальной интубации в условиях искусственной вентиляции легких под управляемым наркозом (кетамин 32 мг/кг, ксилазин 14 мг/кг, дитилин 3 мг/кг) в четвертом межреберье слева выполнялась торакотомия. Затем осуществлялась перикардияллотомия и перевязка передней нисходящей ветви левой коронарной артерии на расстоянии 1,0 см от верхушки сердца (рис. 1). Сразу после коронароокклюзии в зону предполагаемого инфаркта интрамиокардиально с помощью инсулинового шприца вводили клетки или эквивалентное количество питательной среды (рис. 2). Рану послойно ушивали, пневмоторакс ликвидировали путем активной аспирации воздуха из плевральной полости. Интраоперационная летальность составила 10%, послеоперационная – менее 2%.

Все животные были разделены на 3 группы. Животным 1-й группы (n=12) в пораженную зону инъекционным способом вводилась культура ММСК (2×10^6), животным 2-й группы (n=14) вводилась ядродержащая фракция костного мозга (2×10^6), животным 3-й группы (контрольная, n=15) вводилась ростовая среда «MEM».

3. Окрашивание клеток

Окрашивание клеточных культур и ЯСК костного мозга проводили с помощью флуорохрома Hoechst (Sigma, США) в концентрации 1 мкг/мл. Идентификацию окрашенных клеток в сердце осуществляли после ферментативной обработки миокарда смесью трипсин-коллагеназы (Sigma, США). Меченые клетки выявляли с помощью флуоресцентного микроскопа «Axioscop» (Zeiss, Германия).

4. Оценка перфузии миокарда

Оценку уровня перфузии миокарда проводили через 20–25 минут после внутривенного введения радиофармацевтического препарата (РФП) ^{99m}Tc -тетрофосмина (Myoview) в дозе 30–50 МБк методом ОФЭКТ (двухдетекторная гамма-камера E.cam. var, Siemens). В каждой группе исследование осуществляли до выполнения операции и в определенные сроки после моделирования инфаркта: 10 суток, 1,5 месяца, 3 месяца, 6 месяцев и 12 месяцев. Для количественной оценки уровня перфузии использовали показатель соотношения среднего значения накопления РФП в зоне моделированного инфаркта к таковому в интактной зоне. Оценку равномерности перфузии определяли по соотношению максимального и минимального значения пикселя в патологической и референтной зонах (рис. 3).

Все эксперименты на животных выполнены в соответствии с требованиями этического комитета СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Результаты и обсуждение

В результате культивирования клеток, выделенных из аспириата костного мозга, была получена культура клеток – ММСК, которые образовывали колонии фибробластоподобных клеток, а плотный монослой формировали к 7–10 суткам (рис. 4). После окрашивания ММСК смесью реактивов BCIP-NBT участков, положительно окрашенных на ЦДФ, выявлено не было. Окрашивание культуры клеток суданом-III также дало отрицательный результат.

Для изучения влияния трансплантированных клеток на перфузию поврежденного миокарда, прежде всего, необходимо было определить местонахождение введенных клеток. Детекция флуоресцентно окрашенных клеток в миокарде кроликов показала присутствие меченых клеток в зоне ишемического повреждения (рис. 5)

После трансплантации ММСК и ЯСК в ишемизированный миокард уровень перфузии определяли с помощью метода ОФЭКТ. Сводные данные уровня перфузии миокарда представлены в табл.

При количественной оценке перфузионных томосцинтиграмм миокарда кроликов через 10 суток после операции во всех группах отмечалось снижение перфузии в области передней стенки левого желудочка. В 1-й группе значения накопления РФП составили $0,81 \pm 0,01$, во 2-й группе – $0,75 \pm 0,03$, в контрольной группе – $0,59 \pm 0,01$.

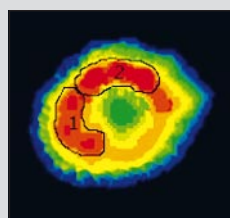


Рис. 3. Перфузионная томосцинтиграмма миокарда кролика:
1 – референтная зона;
2 – патологическая зона



Рис. 4. Культура мультипотентных мезенхимных стромальных клеток, полученных из костного мозга кролика, 21-е сутки культивирования, окраска азуром II. Увеличение $\times 20$



Рис. 5. Флуоресцентная микроскопия препарата миокарда кролика после ферментативной диссоциации. Стрелками обозначены ядра трансплантированных клеток, меченых флуорохромом Hoechst. Увеличение $\times 400$

Таблица. Значения уровня накопления РФП после трансплантации клеток костного мозга на разных сроках эксперимента ($M \pm m$)

Сроки исследования	Трансплантация мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга (1-я группа)	Трансплантация ядросодержащих клеток костного мозга (2-я группа)	Контроль (3-я группа)
До операции	$0,98 \pm 0,03$	$1,00 \pm 0,01$	$1,01 \pm 0,02$
10 дней после операции	$0,81 \pm 0,01$	$0,75 \pm 0,03$	$0,59 \pm 0,01$
1,5 месяца после операции	$0,92 \pm 0,03$	$0,89 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,02$
3 месяца после операции	$1,00 \pm 0,02$	$0,98 \pm 0,01$	$0,61 \pm 0,01$
6 месяцев после операции	$0,98 \pm 0,02$	$0,98 \pm 0,03$	$0,64 \pm 0,04$
12 месяцев после операции	$1,02 \pm 0,04$	$0,99 \pm 0,01$	$0,61 \pm 0,03$

Примечание: $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой.

Через 1,5 месяца после операции в 1-й и во 2-й группах наблюдалось существенное улучшение перфузии. Средние значения накопления РФП составили $0,92 \pm 0,03$ и $0,89 \pm 0,03$ соответственно. В контрольной группе – $0,62 \pm 0,02$.

К 3-му месяцу после операции полная нормализация перфузии отмечалась в опытных группах, где уровень накопления

РФП составил $1,00 \pm 0,02$ и $0,98 \pm 0,01$, тогда как в контрольной группе этот показатель не увеличился и равнялся $0,61 \pm 0,01$.

На сроках 6 и 12 месяцев во всех группах уровень перфузии достоверно не отличался от показателей, выявленных при исследовании через 3 месяца после операции (рис. 6).

Показатели равномерности перфузии в патологической и референтной зонах на 10-е сутки после операции составили: в 1-ой группе – $2,7 \pm 0,2$ и $2,1 \pm 0,2$; во 2-ой – $2,6 \pm 0,2$ и $1,8 \pm 0,3$; в контрольной – $2,8 \pm 0,3$ и $2,1 \pm 0,1$.

Через 1,5 месяца после моделирования инфаркта в 1-й и во 2-й группах эти значения достоверно не отличались ($2,1 \pm 0,1$; $1,8 \pm 0,2$ и $2,2 \pm 0,1$; $1,9 \pm 0,2$); в контрольной группе неравномерность перфузии нарастала и составила $2,9 \pm 0,2$ в пораженном сегменте по отношению к $1,9 \pm 0,1$ в интактном сегменте.

На сроках 3 месяца, 6 и 12 месяцев в опытных группах динамики показателей равномерности перфузии не отмечалось. В контрольной группе по мере возрастания срока наблюдения происходило выраженное увеличение неравномерности перфузии в патологической зоне по отношению к референтной. К 3-му месяцу после операции этот показатель составил в патологической зоне $3,5 \pm 0,2$, в референтной $2,0 \pm 0,1$, через 6 месяцев $5,4 \pm 0,2$ и $2,2 \pm 0,3$, через 12 месяцев – $5,3 \pm 0,3$ и $2,1 \pm 0,1$ (рис. 7).

Представленные результаты показывают, что трансплантация ММСК и ЯСК костного мозга приводит к улучшению перфузии ишемизированного миокарда. Клетки, полученные из аспирата костного мозга, при культивировании образуют колонии фибробластоподобных клеток, которые, по мнению А.Я. Фриденштейна [1991], являются потомками стволовой стромальной клетки [16]. Результаты окрашивания клеточной культуры реактивом BCIP-NBT и суданом-III показали отсутствие спонтанной остеогенной и адипоцитарной дифференцировки клеток, что подтверждает их низкую дифференцировку. D. Orlic et al. (2001) показали, что недифференцированные ММСК обладают тропностью к поврежденным тканям и при трансплантации в зону альтерации активно участвуют в репаративных процессах [17]. ММСК вырабатывают некоторые гемопоэтические и негемопоэтические ростовые факторы, интерлейкины и хемокины, а также экспрессируют рецепторы некоторых цитокинов и ростовых факторов. *In vitro* показано, что ММСК продуцируют цитокины: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14, IL-15, рецепторы для IL-1 α , IL-1 β , IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, TNF α (tumor necrosis factor) [18,19]. Многие из этих цитокинов продуцируются конститутивно, а другие – только после стимуляции. P. Azarnous

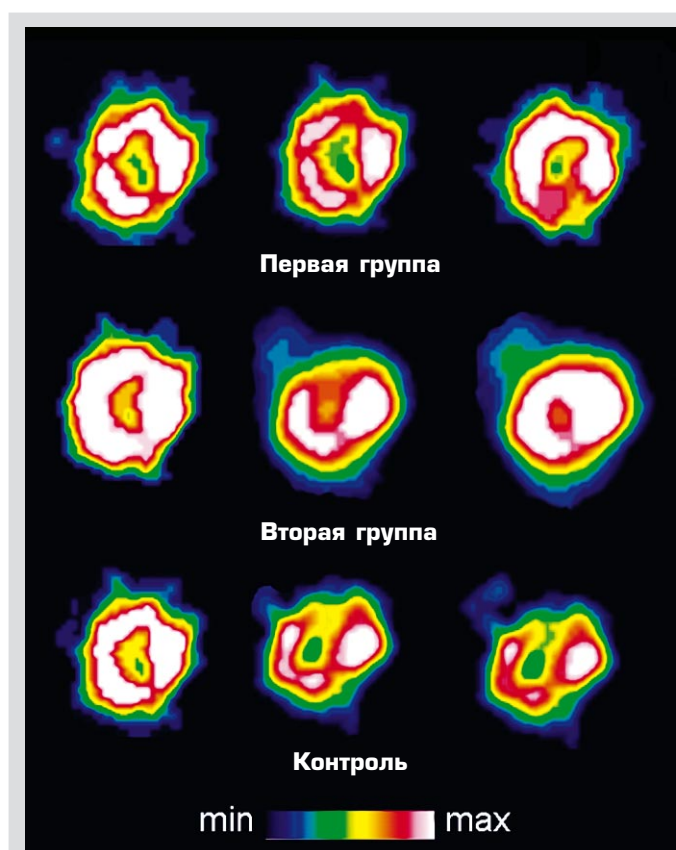


Рис. 6. Перфузионные томосцинтиграммы миокарда кроликов: первая группа – трансплантация мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга; вторая группа – трансплантация ядросодержащих клеток костного мозга; третья группа – контроль

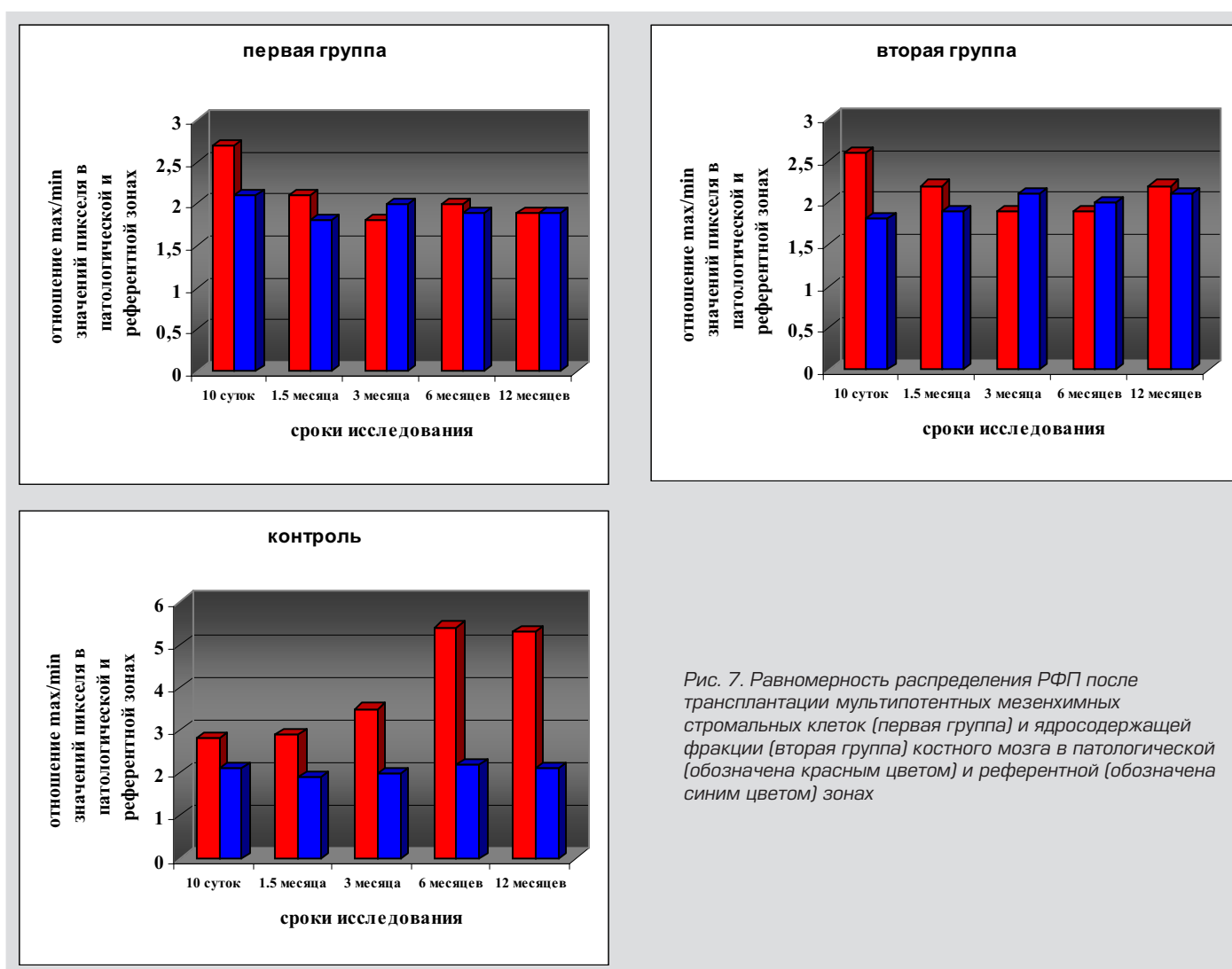


Рис. 7. Равномерность распределения РФП после трансплантации мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (первая группа) и ядродержащей фракции (вторая группа) костного мозга в патологической (обозначена красным цветом) и референтной (обозначена синим цветом) зонах

et al. продемонстрировали способность MMCK после трансплантации в поврежденный миокард крыс вырабатывать цитокин HIF-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α), который оказывает цитопротективное действие и ингибирует апоптоз, что позволяет трансплантированным клеткам выжить в условиях ишемии [20]. Кроме того, MMCK могут продуцировать факторы SDF-1 (stromal cell derived factor-1), SCF (stem cell factor), G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor), способные дополнительно вызывать мобилизацию и хоуминг MMCK костного мозга в ишемизированный миокард и пролиферацию трансплантированных MMCK [21]. Этот механизм позволяет увеличить количество MMCK в миокарде. Участие MMCK в неангиогенезе связано со способностью этих клеток секретировать ангиогенные факторы, такие как VEGF (vascular endothelial growth factor), bFGF (basic fibroblast growth factor), HGF (hepatocyte growth factor), TGF- β (transforming growth factor β), ангиопоэтин-1 и экспрессировать на своей поверхности рецепторы для VEGF (VEGFR2), фибронектина, ламинина, молекулы адгезии ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 [22]. Среди многочисленных факторов ключевую роль в неангиогенезе играет VEGF, являясь важным паракринным фактором нормального развития коронарной сосудистой сети. Так, A. Al-Khaldi (2003) на модели острого инфаркта миокарда после введения MMCK с помощью моноклональных антител блокировал рецепторы к VEGF и не получал эффекта стимуляции ангиогенеза [11]. Вырабатываемые

MMCK ангиогенные факторы способны мобилизовать прогениторные эндотелиальные клетки из костного мозга, стимулировать пролиферацию эндотелиоцитов сосудов поврежденного миокарда и вызывать дифференцировку трансплантированных в миокард MMCK в эндотелиоциты, гладкие миоциты, перициты, фибробласты, которые затем становятся компонентами сосудистой стенки [23].

Таким образом, выявленное нами улучшение перфузии можно объяснить тем, что при попадании в поврежденный миокард MMCK способны активно участвовать в неангиогенезе за счет продукции многочисленных ангиогенных факторов, мобилизации и хоуминга в инвалидизированный миокард MMCK и прогениторных эндотелиоцитов костного мозга, пролиферации и дифференцировки трансплантированных MMCK и регенерации эндотелия.

Трансплантация ЯСК костного мозга также приводила к полному восстановлению перфузии ишемизированного миокарда. Эти клетки представляют собой гетерогенную популяцию и содержат MMCK, гемопоэтические стволовые клетки, прогениторные эндотелиальные клетки, моноциты, лимфоциты и другие. ЯСК костного мозга после трансплантации в миокард секретируют ростовые факторы, создавая специфическое микроокружение, которое осуществляет контроль над процессами пролиферации и дифференцировки MMCK [9]. Однако роль этого механизма невелика, так как доля MMCK среди ЯСК минимальна. N. Takakura et al. (2000) показали,

что гемопоэтические стволовые клетки способны продуцировать ангиогенные факторы роста, например, ангиопоэтин-1, который влияет на эндотелиальную дисфункцию путем повышения чувствительности эндотелия к ростовым факторам [24]. Присутствующие среди ЯСК костного мозга прогениторные эндотелиальные клетки также вырабатывают факторы роста и участвуют в формировании новых сосудов. Основной механизм влияния ЯСК костного мозга на процессы неоангиогенеза реализуется через секрецию ангиогенных факторов в больших количествах: VEGF, bFGF, TGF- β , PDGF (platelet-derived growth factor) и другие. Эти факторы стимулируют пролиферацию эндотелиоцитов сосудов поврежденного миокарда и трансплантированных прогениторных эндотелиальных клеток. Синтезируемые ЯСК костного мозга цитокины также способны вызывать регенерацию эндотелия [12]. Таким образом, трансплантация ЯСК костного мозга в ишемизированный миокард приводит к усилению ангиогенеза, скорее всего, за счет выработки большого количества ангиогенных факторов, стимуляции регенерации эндотелия, участия прогениторных эндотелиальных клеток в образовании новых сосудов, регуляции процессов пролиферации и дифференцировки ММСК.

В контрольной группе не было отмечено увеличения перфузии ишемизированного миокарда, а дефект перфузии сохранялся на всех сроках исследования. После

коронароокклюзии в ишемизированный миокард из крови попадают нейтрофилы, лимфоциты и моноциты, которые вырабатывают разнообразные цитокины и ростовые факторы (VEGF, bFGF, TGF- β , IL- α , IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14, IL-15) [25]. Однако в силу того, что в миокарде отсутствуют ММСК, а количество секретируемых ангиогенных факторов невелико, вероятно, процессы неоангиогенеза в поврежденном миокарде не выражены. Вместо этого развивается фибропластическая реакция стромы, проявляющаяся в пролиферации фибробластов, расположенных между группами кардиомиоцитов и вокруг сосудов.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что интрамиокардиальная аутоперфузия ММСК и ЯСК костного мозга приводит к полному восстановлению перфузии ишемизированного миокарда в эксперименте. Можно предположить, что трансплантированные ММСК, главным образом, влияют на процесс неоангиогенеза за счет их дифференцировки в сосудистые структуры и выработки ангиогенных факторов, а ЯСК – за счет секреции ростовых факторов. Однако механизм неоангиогенеза после трансплантации клеток до конца не изучен, что требует проведения дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Государственный доклад о состоянии здоровья населения Российской Федерации в 2001 году. Здравоохранение Российской Федерации 2000; 2: 7–22.
2. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Медикаментозные пути улучшения прогноза больных хронической сердечной недостаточностью. 1997; М.: Инсайт: 77.
3. Регин В.С. Трансплантация клеток: новые реальности в медицине. Бюлл. эксперим. биол. и мед. 1998; 126 (приложение 1): 14–28.
4. Chachques J.S., Salanson-Lajos C., Lajos C. et al. Cellular cardiomyoplasty for myocardial regeneration. Asian Cardiovasc. Thorac. Ann. 2005; 13(3): 287–96.
5. Limbourg F.P., Ringes-Lichtenberg S., Schaefer A. et al. Haematopoietic stem cells improve cardiac function after infarction without permanent cardiac engraftment. Eur. J. Heart Fail. 2005; 7(5): 722–9.
6. Murohara T., Ikeda H., Duan J. et al. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. J. Clin. Invest. 2000; 105: 1527–36.
7. Asahara T., Takahashi T., Masuda H. et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. EMBO J. 1999; 18: 3964–72.
8. Katritsis D.G., Sotiropoulou P.A., Karvouni E. et al. Transcatheter transplantation of autologous mesenchymal stem cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium. Catheter Cardiovasc. Interv. 2005; 65(3): 321–9.
9. Shintani S., Murohara T., Ikeda H. et al. Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. Circ. 2001; 103: 897–5.
10. Zhang S. Long-term effects of bone marrow mononuclear cell transplantation on left ventricular function and remodeling in rats. Life Sci. 2004; 74(23): 2853–64.
11. Al-Khalidi A., Eliopoulos N., Martineau D. et al. Therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow stromal cells. Ann. Thorac. Surg. 2003; 75(1): 204–9.
12. Tang Y.L. Autologous mesenchymal stem cells for post-ischemic myocardial repair. Methods Mol. Med. 2005; 112: 183–92.

13. Непомнящих Л.М. Морфология адаптивных реакций миокарда при экстремальных экологических воздействиях. Вестн. РАМН 1997; 3: 43–53.
14. Полежаев Л.В. Состояние проблемы регенерации мышцы сердца. Усп. совр. биол. 1995; 115: 198–212.
15. Matsunari I., Kanayama S., Yoneyama T. et al. Myocardial distribution of 18F-FDG and 99mTc-sestamibi on dual-isotope simultaneous acquisition SPET compared with PET. E. J. of Nuclear Medicine 2002; 29(10): 1357–64.
16. Фриденштейн А.Я. Стволовые остеогенные клетки костного мозга. Онтогенез 1991; 2: 189–97.
17. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S. et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature 2001; 410: 701–5.
18. Tang Y.L., Zhao Q., Qin X. et al. Paracrine action enhances the effects of autologous mesenchymal stem cell transplantation on vascular regeneration in rat model of myocardial infarction. Ann. Thorac. Surg. 2005; 80(1): 229–36; discussion 236–7.
19. Vandervelde S., Luyn M.J., Tio R.A. et al. Signaling factors in stem cell-mediated repair of infarcted myocardium. Mol. Cell Cardiol. 2005; 39(2): 363–76.
20. Azamoun K., Maurel A., Sebbah L. et al. Enhancement of the functional benefits of skeletal myoblast transplantation by means of coadministration of hypoxia-inducible factor 1alpha. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2005; 130(1): 173–9.
21. Archundia A., Aceves J.L., Lopez-Hernandez M. et al. Direct cardiac injection of G-CSF mobilized bone-marrow stem-cells improves ventricular function in old myocardial infarction. Life Sci. 2005; 78(3): 279–83.
22. Matsumoto R., Omura T., Yoshiyama M. et al. Vascular endothelial growth factor-expressing mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of acute myocardial infarction. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005; 25(6): 1168–73.
23. Yoon J., Min B.G., Kim Y.H. Differentiation, engraftment and functional effects of pre-treated mesenchymal stem cells in a rat myocardial infarct model. Acta Cardiol. 2005; 60(3): 277–84.
24. Takakura N., Watanabe T., Suenobu S. et al. A Role for Hematopoietic Stem Cells in Promoting Angiogenesis. Circ. 1999; 100(11): 452–68.
25. Kobayashi T., Hamano K., Li T.S. et al. Angiogenesis induced by the injection of peripheral leukocytes and platelets. Surg. Res. 2002; 103: 279–86.