

DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-4-293-301
EDN: DXUZOХ

УДК 616.12-008.46-085.361

**И.С. Долгополов¹, М.Ю. Рыков^{*1,2}, В.А. Осадчий^{1,3}**¹ — ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинской университет»
Минздрава России, Тверь, Россия² — Медицинская клиника «НАКФФ», Москва, Россия³ — ГБУЗ ТО «Клиническая больница скорой медицинской помощи», Тверь, Россия

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ И БЕСКЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

I.S. Dolgoplov¹, M.Yu. Rykov^{*1,2}, V.V. Osadchij^{1,3}¹ — Tver State Medical University, Tver, Russia² — Medical clinic "NAKFF", Moscow, Russia³ — Clinical Emergency Hospital, Tver, Russia

Regenerative Therapy for Chronic Heart Failure: Prospects for the Use of Cellular and Acellular Technologies

Резюме

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является одной из наиболее распространенных и тяжелых форм ишемической болезни сердца (ИБС), на фоне которой существенно снижается продолжительность и качество жизни пациентов. Применяемые в настоящее время фармакологические и немедикаментозные методы лечения недостаточно эффективны, а трансплантация сердца ограничена организационными и техническими сложностями, возникающими при выполнении этого оперативного вмешательства, а также недостаточной доступностью донорских органов. Известно, что потенциал клеток миокарда к репарации невелик, поэтому регенеративная терапия может быть востребована, как новое перспективное направление лечения ХСН.

Существует несколько направлений клеточной терапии, способствующей улучшению процессов репарации миокарда. Одним из них является трансплантация соматических стволовых клеток, которая считается безопасной и несколько улучшает сократимость миокарда, преимущественно за счет паракринных механизмов регуляции клеточного цикла. В качестве альтернативы этой методики, для трансплантации непосредственно в поврежденные участки миокарда могут быть использованы кардиомиоциты, полученные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC). Однако до начала применения таких клеток у лиц, страдающих ХСН, предстоит решить проблемы их потенциальной онкогенности и недостаточно хорошей выживаемости в условиях редукции кровотока на фоне тяжелого коронарного атеросклероза. В ряде исследований рассматривались и другие направления клеточной терапии, в частности бесклеточный подход к прямому перепрограммированию, заключающийся в преобразовании эндогенных сердечных фибробластов в индуцированные кардиомиоцитоподобные клетки. В обзоре рассматривается текущая ситуация и перспективы использования регенеративных клеточных и бесклеточных технологий при ХСН, которые могут быть введены в клиническую практику в ближайшем будущем.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, регенеративная клеточная терапия, клеточные и бесклеточные технологии, кардиомиоциты, фибробласты

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что данная работа, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования

Статья получена 07.02.2022 г.

Принята к публикации 05.04.2022 г.

*Контакты: Максим Юрьевич Рыков, e-mail: wordex2006@rambler.ru

*Contacts: Maksim Yu. Rykov, e-mail: wordex2006@rambler.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8398-7001>

Для цитирования: Долгополов И.С., Рыков М.Ю., Осадчий В.А. РЕГЕНЕРАТИВНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ И БЕСКЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ. Архивъ внутренней медицины. 2022; 12(4): 293-301. DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-4-293-301. EDN: DXUZOX

Abstract

Cardiovascular diseases are the second leading cause of death and disability worldwide after malignancies. Heart failure (HF) has a large impact not only on the economics of healthcare but also on the quality of life, functionality and life expectancy of patients. Pharmacological and non-pharmacological therapies have been developed, but these medical therapies have limited effects to cure patients with severe CH. Heart transplantation is limited due to the low number of donor organs. Human cardiac potential for spontaneous repair is insignificant, so regenerative therapy is in great demand as a new treatment strategy. Currently, there are several strategies for heart regeneration. Transplantation of somatic stem cells was safe and modestly improved cardiac function after myocardial infarction and in patients with CF mainly through paracrine mechanisms. Alternatively, new cardiomyocytes could be generated from induced pluripotent stem cells (iPSCs) to transplant into injured hearts. However, several issues remain to be resolved prior to using iPSC-derived cardiomyocytes, such as a potential risk of tumorigenesis and poor survival of transplanted cells in the injured heart. Recently, direct cardiac cell-free reprogramming has emerged as a novel technology to regenerate damaged myocardium by directly converting endogenous cardiac fibroblasts into induced cardiomyocyte-like cells to restore cardiac function.

Many researchers have reported direct reprogramming of the heart in vivo in animal and human cells. In this review, we review the current status of cardiac cell-based and cell-free regenerative technology, a great hope to treat cardiovascular diseases in clinical practice.

Key words: *chronic heart failure, regenerative cell therapy, cell and cell-free technologies, cardiomyocytes, fibroblasts*

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests

Sources of funding

The authors declare no funding for this study

Article received on 07.02.2022

Accepted for publication on 05.04.2022

For citation: Dolgoplov I.S., Rykov M.Yu., Osadchij V.V. Regenerative Therapy for Chronic Heart Failure: Prospects for the Use of Cellular and Acellular Technologies. The Russian Archives of Internal Medicine. 2022; 12(4): 293-301. DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-4-293-301. EDN: DXUZOX

ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ИБС — ишемическая болезнь сердца, иПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, КПК — клетки-предшественницы кардиомиоцитов, ЛЖ — левый желудочек, МНК — мононуклеарные клетки, ФВ — фракция выброса, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ЭСК — эмбриональные стволовые клетки

Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) обоснованно считается ведущей причиной инвалидности и смертности в большинстве стран мира. ИБС приводит к развитию хронической сердечной недостаточности (ХСН), которая представляет собой глобальную проблему современного общества, резко сокращает продолжительность и снижает качество жизни населения, увеличивает нагрузку на экономическую составляющую здравоохранения. Во всем мире ХСН страдают более 40 миллионов взрослого населения. Прогнозируется, что к 2030 году ее распространенность возрастет еще на менее чем 45-50%. Частота выявления недостаточности кровообращения увеличивается по мере старения населения и приближается к критическому показателю 10 на 1000 жителей у лиц в возрастной группе старше 65 лет.

Патогенетической основой ХСН являются нарушения прежде всего систолической функции миокарда левого и правого желудочка. Как следствие, увеличивается объём межклеточной жидкости, возникают застойные явления по малому и большому кругу кровообращения, ухудшается перфузия органов и тканей, постепенно развивается полиорганная недостаточность. В классификациях недостаточности кровообращения, используемых в настоящее время в широкой клинической практике, в качестве базовых критериев оценки тяжести

ее течения, наряду со степенью ограничения функциональной активности пациента, выраженностью застойных изменений и их устойчивости к проводимой терапии, определяется потребность в механической поддержке кровообращения и трансплантации сердца. Такая необходимость продиктована резким снижением фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) у подавляющего большинства пациентов, госпитализированных по поводу декомпенсированной ХСН. Причем анализ распространенности снижения сократительной функции ЛЖ выявляет ряд достоверных расовых и гендерных различий. Так, у афроамериканских мужчин наблюдается наиболее высокая частота выявления ХСН, сопровождающаяся существенным снижением ФВ, удельный вес которой приближается к 70%. У женщин европеоидной расы, напротив, в 60% случаев отмечается незначительно сниженная или нормальная ФВ [1, 2].

Лечение ХСН заключается в основном в назначении комплексной медикаментозной терапии, которая имеет патогенетическую направленность. В первую очередь оптимальная терапия способствует поддержанию сократительной функции миокарда левого желудочка, купированию легочной гипертензии, ликвидации застойных изменений, подавлению избыточной активности гуморальных регулирующих систем, в частности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, вызывающей генерализованные нарушения водно-солевого

баланса. Однако возможности медикаментозного лечения, особенно при развитии тяжелой застойной недостаточности кровообращения, часто ограничены, что обуславливает высокий уровень смертности таких пациентов. Одной из важнейших причин невысокой эффективности консервативного лечения является неуклонно прогрессирующий процесс дегенерации и гибели кардиомиоцитов, их постепенное замещение фибробластами, которые не способны должным образом обеспечить функциональную активность желудочков. В качестве альтернативы фармакотерапии терминальной ХСН могут рассматриваться оперативные методы лечения, такие как аортокоронарное шунтирование, пластика атрио-вентрикулярного кольца, протезирование клапанов, аневризмэктомия и некоторые другие. Однако, возможность их выполнения и эффективность различными авторами оценивается неоднозначно. Наиболее действенным среди них следует считать трансплантацию сердца, которая, однако, ограничена острым дефицитом доноров, строгими критериями отбора пациентов и высоким риском при проведении хирургического вмешательства. Таким образом, имеющиеся в настоящее время в распоряжении практического врача фармакологические и хирургические методы лечения ХСН в ряде случаев недостаточно эффективны и требуют дальнейшего совершенствования.

Одним из перспективных направлений лечения пациентов с ХСН может считаться регенеративная клеточная и бесклеточная терапия, которая позволит потенцировать процессы репарации миокарда и тем самым увеличить продолжительность и качество жизни пациентов. Принято считать, что кардиомиоциты у млекопитающих находятся в терминально дифференцированном состоянии. В результате этого млекопитающие не способны самостоятельно восстановить миокард, поврежденный под влиянием того или иного патологического фактора, в отличие, например, от амфибий или рыб, которые демонстрируют устойчивые регенеративные реакции участков миокарда при травматическом повреждении. Тем не менее, было показано, что новорожденные мыши обладают способностью регенерировать значительные участки сердечной мышцы после частичной хирургической резекции [3]. Исследования, проведенные группой ученых из Каролинского университета, показали, что пул кардиомиоцитов обновляется в процессе жизни и у людей со скоростью 0,5–1 % от всей популяции в год [4]. Однако регенерационная способность кардиомиоцитов человека недостаточна велика и не способна обеспечить восстановление участка миокарда более или менее значительных размеров. На начальном этапе попытки регенеративной терапии сердечной мышцы предпринимались с использованием моноклеональных клеток костного мозга (МНК). Несмотря на то, что ранние клинические испытания продемонстрировали улучшение сократительной функции миокарда, результаты последующих исследований были менее обнадеживающими [5]. С развитием клеточных технологий и возможностью получать *in vitro* клетки-предшественницы кардиомиоцитов (КПК), обладающих способностью пролиферировать

и дифференцироваться в зрелые специализированные клетки миокарда, наступил новый этап развития регенеративной клеточной терапии [6]. Введение культуры аутологичных КПК продемонстрировало некоторое улучшение сократительной функции сердечной мышцы и оказалось безопасным. Тем не менее, выживаемость трансплантированных клеток остается низкой, а их способность к дифференцировке в зрелые кардиомиоциты — весьма ограниченной. Вероятнее всего, позитивные эффекты, которые отмечаются при использовании клеточной терапии МНК и КПК, связаны скорее с паракринными воздействиями на функционирующие кардиомиоциты, чем их регенерацией [7]. Введение кардиомиоцитов, полученных в результате дифференцировки из аллогенных плюрипотентных стволовых клеток, таких как эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК), также показало свою эффективность. Однако применение этих источников клеток ограничено из-за низкой скорости приживления трансплантата, в связи с их потенциальной онкогенностью, риском отторжения и этическими причинами. В последнее время развиваются и бесклеточные регенеративные подходы. Одной из новейших технологий, направленных на регенерацию кардиомиоцитов и восстановление функциональных способностей миокарда, является терапия стволовыми клетками и репрограммирование резидентных фибробластов в кардиомиоциты непосредственно *in vivo* путем трансдукции определенных кардиоспецифичных факторов [8, 9].

В данном обзоре обобщены достижения современной медицинской науки и практики в изучении возможностей регенерации высокоспецифичных клеток сердца, перспективы и проблемы клинического применения клеточных и бесклеточных технологий при лечении ХСН в ближайшем будущем.

Регенеративная клеточная терапия поврежденных миокарда

Использование соматических стволовых клетки взрослого типа и эмбриональных клеток

На ранних стадиях регенеративных медицинских исследований МНК костного мозга вызвали значительный интерес, так как они показали кардиогенный потенциал *in vitro* и продемонстрировали эффективность на моделях инфаркта миокарда у грызунов [5, 10]. Небольшие клинические исследования различных способов введения МНК людям продемонстрировали умеренное увеличение фракции выброса и некоторую положительную динамику в области очагово-рубцовых изменений миокарда. Однако последующие многочисленные, рандомизированные и двойные слепые клинические испытания оказались неудачными при попытке воспроизвести ранее полученные результаты [5, 11]. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) костного мозга также показали кардиогенный потенциал *in vitro*

и улучшение сердечной функции на животных моделях инфаркта миокарда. Вместе с тем, многоцентровые клинические испытания, такие как POSEIDON, выявили лишь умеренное улучшение сердечной функции, а дальнейшие исследования продемонстрировали, что МСК не обладают способностью дифференцироваться в полноценные зрелые кардиомиоциты [12, 13].

Интерес к клеткам-предшественницам кардиомиоцитов (КПК) для клинических испытаний был вызван сообщением о том, что они способны дифференцироваться в трех направлениях, необходимых для регенерации структур миокарда, в частности кардиомиоциты, клетки гладкой мускулатуры и эндотелиальные клетки. В экспериментах *in vitro* была выявлена роль одного из гомопоэтических маркеров на поверхности КПК. В ряде доклинических испытаний *c-kit* (ген, кодирующий рецептор белковой тирозинкиназы *kit*) положительные КПК продемонстрировали регенераторный потенциал на моделях мелких и крупных животных [14]. Первые клинические испытания SCIPIO, в которых пациентам с ишемической кардиомиопатией интракоронарно вводили аутологичные *c-kit* (+) КПК выявило небольшое увеличение фракции выброса и уменьшение размера зоны кардиосклероза [15]. В следующем исследовании CADUCEUS использовали смешанную популяцию КПК, включающую *c-kit* (+) клетки и кардиосферы [7]. Было показано, что интракоронарная инфузия аутологичных КПК в постинфарктом периоде является безопасной, технически осуществимой и эффективной. В частности, было отмечено достоверное, по сравнению с контрольной группой, снижение массы рубца, увеличение жизнеспособной массы сердца и улучшение локальной сократимости. Однако изменения фракции выброса, конечного систолического и диастолического объема левого желудочка на фоне лечения аутологичными КПК в основной и контрольной группе не имели существенных отличий. Более поздние исследования на животных показали, что *c-kit* (+) КПК лишь в небольшом количестве трансформировались в кардиомиоциты, а преобразовывались в основном в эндотелиальные клетки [16].

По результатам доклинических исследований клеточных культур, в качестве материала для регенераторной терапии миокарда также рассматривались клетки-предшественники скелетных мышц, локализирующиеся под базальной пластиной мышечных волокон. Однако при тестировании на животных моделях и в небольших клинических исследованиях на людях была отмечена высокая частота возникновения желудочковых аритмий, что увеличивало вероятность развития внезапной коронарной смерти [17]. Патофизиологической основой возникновения аномальных желудочковых экстрасистол и эпизодов пароксизмальной желудочковой тахикардии стало отсутствие электромеханической связи между трансплантированными клетками и клетками-хозяевами [18]. Результаты исследования MAGIC не показали эффективности использования клеток скелетных мышц при ишемической кардиомиопатии ни в ближайшей, ни в отдаленной перспективе [19, 20]. Проведенный метаанализ 667 пациентов из 11 исследований, получавших терапию аутологичными МНК по

поводу неишемической дилатационной кардиомиопатии, показал, что использование такой методики дает неплохие результаты в основном в плане роста величины фракции выброса левого желудочка и снижения его конечного диастолического объема. Кроме того, в группе пациентов, перенесших трансплантацию МНК, отмечалось улучшение результатов теста с шестиминутной ходьбой, по сравнению с контрольной группой [21].

В ряде исследований сообщается об успешном использовании кроветворных аутологичных стволовых СД34+ клеток человека, полученных из периферической крови на фоне мобилизации гранулоцитарным колониестимулирующим фактором, у пациентов с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП). Так, по результатам рандомизированного исследования, включавшего 110 пациентов с ДКМП, в основной группе определялось достоверное повышение фракции выброса левого желудочка, увеличение расстояния ходьбы в течение 6 минут и снижение уровня N-концевого натрийуретического пептида В-типа, который является одним из надежных маркеров гиперволемии, наблюдающейся при ХСН. Продолжительность наблюдения за пациентами составляла не менее 5 лет. При этом, их пятилетняя выживаемость оказалась в 2,3 раза выше, чем в контрольной группе. Повышение фракции выброса левого желудочка напрямую коррелировало с дозой трансплантированных в миокард СД34+ клеток [22]. Однако, в отличие от достаточно хороших результатов клеточной терапии при ДКМП, ее эффективность при лечении инфаркта миокарда, очагового или диффузного кардиосклероза различными авторами оценивается неоднозначно. В частности, требует дополнительного изучения способ введения стволовых клеток и их дозы. Также создается впечатление о тщательной селекции пациентов в группы исследования с учетом жестких критериев включения в протоколы [23].

Хорошие результаты были получены при интрамиокардиальном применении СД34+ МНК у пациентов со стенокардией напряжения 3–4 функционального класса, резистентной к комплексной антиангинальной терапии. Метаанализ рандомизированных двойных слепых исследований фазы-1 и фазы-2 АСТ-34 и фазы-3 RENEW при долгосрочном наблюдении показал улучшение толерантности к физической нагрузке, уменьшение интенсивности и частоты возникновения болевого синдрома в грудной клетке, а также достоверное снижение частоты развития инфаркта миокарда и клинически значимой ХСН у пациентов, получавших клеточную терапию [24]. Касаясь патогенетической основы столь хорошего терапевтического эффекта, авторы отмечают, что клетки, несущие на своей поверхности СД34+ рецептор, способны запускать процессы ангиогенеза и неоваскуляризации тканей сердца при помощи нескольких механизмов. Во-первых, СД34+ МНК дифференцируются в клетки гладкой мускулатуры и эндотелиальные клетки, которые являются основными структурными компонентами внутренних стенок сосудов. Это, в свою очередь, приводит к повторной эндотелизации сосудов и реваскуляризации миокарда [25]. Во-вторых, они осуществляют паракринную

регуляцию, вырабатывая факторы, стимулирующие ангиогенез и подавляющие апоптоз эндотелиальных клеток и кардиомиоцитов. Кроме того, факторы, выделяемые СД34+ МНК, способствуют ремоделированию внеклеточного матрикса и мобилизации дополнительных клеток-предшественников [25, 26]. Проангиогенный механизм клеточной терапии СД34+ МНК опосредован также продукцией так называемых экзосом, представляющих собой мембраносвязанные нанопузырьки. Экзосомы переносят проангиогенные микроРНК, которые активируют процессы деления и дифференцировки стволовых клеток [27].

Концепция применения эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) привлекательна в свете их плюрипотентности и способности дифференцироваться в любом из направлений, в том числе в функциональные кардиомиоциты [28]. Однако клиническое применение ЭСК ограничено этическими проблемами, а также тем, что они обладают высокой иммуногенностью и могут вызывать реакцию отторжения. Кроме того, остается окончательно нерешенным вопрос о потенциальной генетической нестабильности этих клеток и формировании из них доброкачественных, а, возможно, и злокачественных новообразований [29, 30].

Кардиомиоциты, полученные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC)

Другой терапевтический подход предполагает использование функциональных кардиомиоцитов, полученных *in vitro* из аутологичных или аллогенных iPSC [31]. Такое направление лечения получило развитие после публикации результатов исследований Takahashi К. с соавт. [32, 33] о возможности напрямую перепрограммировать мышинные и человеческие фибробласты с использованием комбинации четырех факторов транскрипции: Oct 4, Sox 2, Klf 4 и c-Мус, также известных как факторы Яманака. iPSC, полученные таким путем, имеют общие с ЭСК основные морфологические и функциональные характеристики, демонстрируют экспрессию однопотипных генов, что позволяет считать их хорошей альтернативой клеткам эмбрионов [32-34]. Таким образом, открытие iPSC решило существующие этические проблемы и имеет большой потенциал для развития клеточной регенераторной терапии в эпоху персонализированной медицины. Перспективным также выглядит использование аутологичных для пациента фибробластов, перепрограммированных в iPSC, специфичных для тканей сердца. Группа японских исследователей сообщила, что трансплантированные кардиомиоциты, полученные из аллогенных iPSC, способны персистировать в тканях сердца у иммуносупрессивных макаков в течение 12 недель. При этом было отмечено улучшение сократительной функции миокарда и рост фракции выброса левого желудочка [35]. Анализируя нежелательные эффекты, исследователи отмечали высокую частоту развития желудочковых аритмий, связанных, вероятнее всего, с различной степенью зрелости

и функциональной активности трансплантированных кардиомиоцитов. Несмотря на то, что в последующих работах была продемонстрирована возможность получать более зрелую и однородную популяцию клеток, гетерогенность кардиомиоцитов, полученных из iPSC, может быть одним из существенных препятствий для внедрения методики в клиническую практику [36]. Еще одной проблемой является то, что iPSC демонстрируют выраженную генетическую нестабильность и способность образовывать тератомы *in vivo* [37].

Прямое перепрограммирование клеток миокарда

Прямое репрограммирование резидентных фибробластов, формирующих рубец, в кардиомиоциты может изменить подходы к клеточной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы, в первую очередь, инфаркта миокарда (рисунок 1).

Показано, что комбинация нескольких кардиоспецифических факторов, таких как *Gata4* (ген, кодирующий белки для «цинковых пальцев» связывания с последовательностью ДНК «GATA» и играющих роль в дифференцировке клеток миокарда), *Mef2c* (ген, кодирующий миоцит-специфический энхансерный фактор 2С) и *Tbx5* (ген, кодирующий T-box 5фактор транскрипции), способна напрямую, минуя стадию стволовой клетки, преобразовывать фибробласты в клетки сердечной мышцы [9, 38]. Данная методика позволяет обойти ограничения, связанные с требованиями к количеству трансплантированных клеток, их приживаемостью и существенно снизить риск формирования тератом. В ходе эксперимента на животных перепрограммированные кардиомиоциты характеризовались хорошим межклеточным взаимодействием и структурной организацией, имели глобальные профили экспрессии генов, сходные с естественными клетками сердечной мышцы, и демонстрировали наличие электрофизиологических потенциалов и спонтанных сокращений. К сожалению, при проведении исследований с человеческими клетками данной комбинации факторов оказалось недостаточно [39]. Однако, несмотря на низкую эффективность перепрограммирования и отсутствие спонтанного биения, клетки продемонстрировали способность к созреванию и синхронному сокращению при совместном культивировании с кардиомиоцитами мышцы. В работах Cao N. с соавторами показано, что человеческие фибробласты способны превращаться в кардиомиоцитоподобные клетки с помощью комбинации девяти различных химических соединений [40].

Во время прямого перепрограммирования клеток сердца различные сигнальные пути, такие как трансформирующий фактор роста-β (TGF-β), Rho-ассоциированная киназа (ROCK), белки путей WNT (Сигнальный путь Wnt — один из внутриклеточных сигнальных путей млекопитающих, регулирующий эмбриогенез и дифференцировку клеток), Notch (трансмембранные белки, регулирующие клеточную дифференцировку и взаимодействие прилегающих друг к другу клеток) и Akt (белки семейства протеинкиназ B),

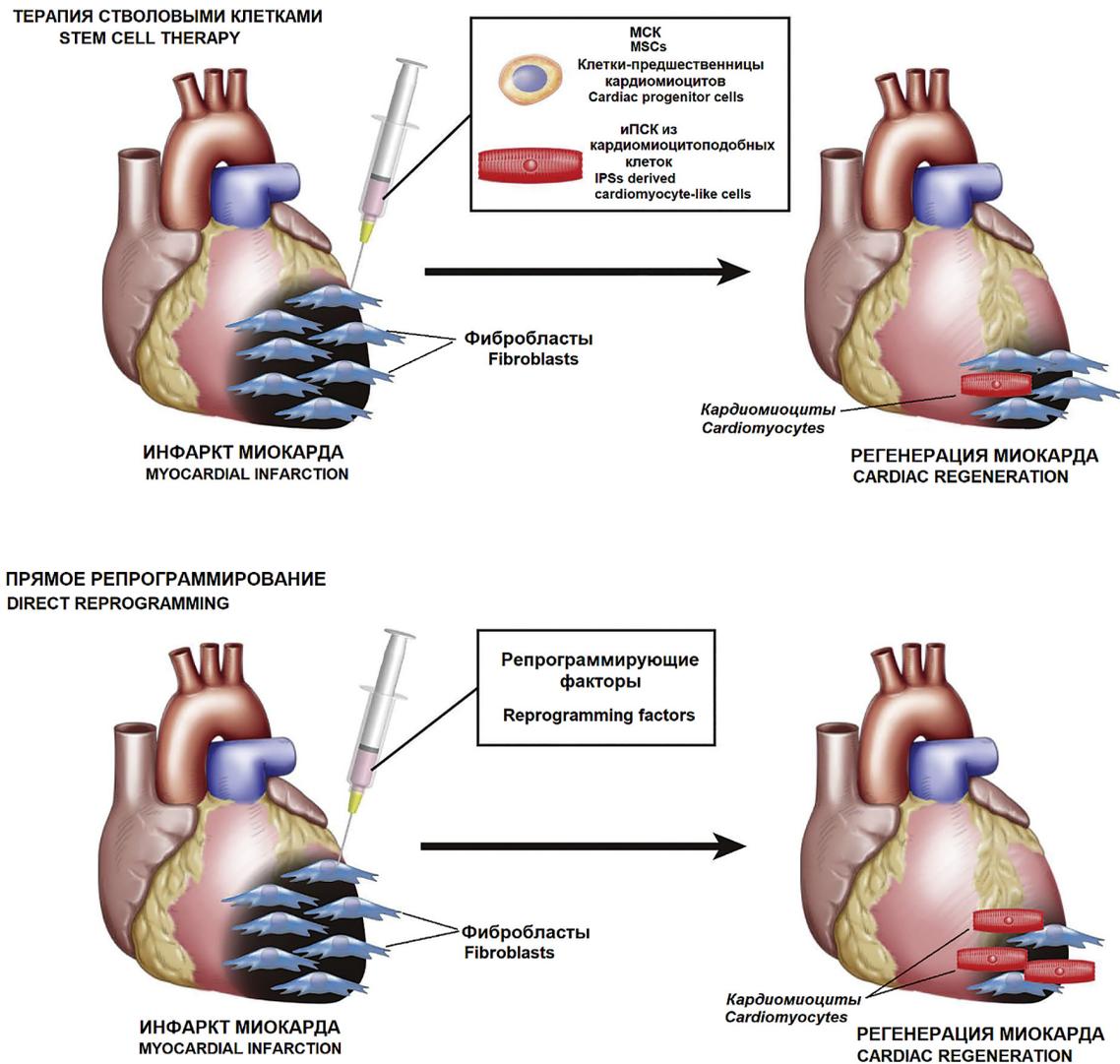


Рисунок 1. Стратегии регенерации поврежденного миокарда

Примечание: МСК-мезенхимальные стволовые клетки, иПСК (iPSC) — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки

Figure 1. Strategies for regeneration of damaged myocardium

Note: MSC-mesenchymal stem cells, iPSCs — induced pluripotent stem cells

взаимодействуют друг с другом. Воздействие на эти пути на различных этапах может влиять на эффективность терапии. Примечательно, что путь TGF- β является одним из активных путей и в фибробластах. Показано, что ингибирование путей TGF- β и WNT увеличивает эффективность перепрограммирования [41, 42]. Вероятно, клеточные сигналы, обеспечивающие нормальное функционирование фибробластов, играют роль барьера при попытках трансформировать их в другие типы клеток, и должны быть супрессированы для успешного перепрограммирования. Эпигенетические барьеры являются еще одним препятствием для процесса прямого репрограммирования помимо сигнальных путей, характерных для фибробластов. Для достижения успешного перепрограммирования клетки должны иметь возможность задействовать гены, которые неактивны в данной клеточной популяции. Эпигенетические факторы контролируют их деятельность с помощью метилирования, ацетилирования и убиквитинирования гистонов [9]. Исследовательская группа Zhou Y. С соавт.

выделили Bmi1 (B cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1) белок из группы протеинов, способных ремоделировать хроматин, который является критическим эпигенетическим барьером для прямого репрограммирования фибробластов в кардиомиоциты [43]. Авторы продемонстрировали, что Bmi1 регулирует ключевые кардиогенные гены посредством прямого связывания этих локусов в фибробластах, а ингибирование Bmi1 способствует их активации.

Конечной целью прямого перепрограммирования является восстановление поврежденного миокарда и улучшение функционального состояния сердечной мышцы путем преобразования эндогенных фибробластов в кардиомиоциты. В нескольких исследованиях сообщалось о прямом репрограммировании *in vivo* путем доставки набора необходимых для этого факторов в ишемизированный миокард мышей [44, 45]. С целью демонстрации происхождения этих кардиомиоцитов из резидентных сердечных фибробластов проводилось отслеживание клонов, которое давало возможность

подтвердить, что полученная клеточная популяция не является результатом слияния с существующими клетками миокарда. Эти исследования продемонстрировали, что индуцированные кардиомиоциты, сформировавшиеся *in vivo* по своим морфологическим и физиологическим параметрам, более похожи на эндогенные кардиомиоциты, чем полученные *in vitro*. Это может быть результатом воздействия факторов естественного микроокружения, таких как внеклеточный матрикс, секретируемые белки и межклеточные взаимодействия. Хотя перепрограммирование *in vivo* может улучшить сердечную функцию и уменьшить тяжесть фиброзных изменений после перенесенного инфаркта миокарда, широкому началу клинических испытаний препятствует использование ретровирусных и лентивирусных векторов доставки кардиоспецифических факторов в клетки. Вирусные векторы могут произвольно встраиваться в ДНК, изменять его последовательность и способствовать инсерционному мутагенезу. Перед началом внедрения в клиническую практику методик прямого перепрограммирования клеток сердца необходимо разработать методы воздействия на эти клетки, исключающие интеграцию вирусов в ДНК. Интересный подход был предложен группой японских ученых, которые разработали полицистронный векторный вирус Сендай (вирус парагриппа мышей), экспрессирующий кардиоспецифические факторы Gata4, Mef2c и Tbx5 (SeV-GMT). Эффективность применения SeV-GMT была продемонстрирована в экспериментах *in vitro* и *in vivo* на животных моделях [46]. Вирус Сендай представляет собой несегментированный РНК-вирус семейства парамиксовирусов, который реплицируется только в цитоплазме и не интегрируется в геном хозяина. Примечательно, что применение новой технологии способствовало достоверному улучшению сократительной функции сердца и уменьшению тяжести рубцовых изменений миокарда у мышей в постинфарктном периоде, в сравнении с группой животных, получивших традиционную терапию с использованием ретровируса.

Заключение

Существующие терапевтические подходы к лечению повреждений миокарда, приводящих к развитию ХСН, не могут полностью предотвратить развитие фиброзных изменений в ишемизированных участках сердечной мышцы и восстановить их нормальную функциональную активность. Клеточная терапия была предложена в клиническую практику как многообещающий подход к регенерации сердечной мышцы. Однако результаты клинических испытаний соматических стволовых клеток показали их умеренное влияние на сократительную функцию. Одна из причин такого результата может быть связана с низким приживлением пересаженных клеток. Вероятно, дальнейшие работы по изучению оптимальных доз клеток и времени их трансплантации, путей введения, а также разработка новых технологий, таких как системы доставки клеток на основе биоматриц, и методы тканевой инженерии, смогут помочь преодолеть эти проблемы. Прямое

перепрограммирование клеток миокарда может стать одним из основных направлений регенеративной медицины при хронической недостаточности кровообращения. После открытия кардиоспецифических факторов технологии прямого перепрограммирования клеток сердца значительно продвинулись вперед в направлении клинического применения. Однако непосредственно перед началом клинических испытаний необходимо решить несколько проблем. Во-первых, эффективность репрограммирования остается низкой, а генерированные кардиомиоциты демонстрируют гетерогенную зрелость. Эффективность репрограммирования может быть увеличена за счет идентификации дополнительных факторов транскрипции, микро-РНК, появления новых активных химических соединений и разработки методов модификации эпигенетических механизмов регуляции функционирования генов. Во-вторых, назрела необходимость разработать стандартный оптимальный протокол для генерации кардиомиоцитов, что позволит получать сравнимые результаты исследований в этой области. Наконец, необходимо проведение экспериментов непосредственно на моделях ХСН. Практически все исследования и доклинические работы по перепрограммированию клеток сердца *in vivo* проводились в остром периоде инфаркта миокарда. Остается неизвестным, может ли перепрограммирование *in vivo* применяться к моделям ХСН, при которой имеется большой запрос на регенеративные технологии. Регенеративная медицина является перспективным методом лечения хронической недостаточности кровообращения, а широкое использование различных видов клеточной терапии могло бы существенно улучшить его ближайшие и отдаленные результаты, снизить уровень смертности при этом заболевании.

Вклад авторов:

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией

Долгополов И.С. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9777-1220>): формулирование идеи, целей и задач, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания, участие в научном дизайне работы

Рыков М.Ю. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8398-7001>): участие в разработке концепции, формулировка и развитие ключевых целей и задач, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и редактирование текста, его критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания

Осадчий В.А. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9099-1351>): сбор данных, участие в составлении черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания, статистическая обработка результатов

Author Contribution:

All the authors contributed significantly to the study and the article, read and approved the final version of the article before publication

Dolgoplov I.S. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9777-1220>): idea formation, formulation and development of key goals and objectives, analysis and interpretation of data, preparation of a manuscript with the introduction of valuable intellectual content, participation in the scientific design of the work

Rykov M.Yu. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8398-7001>): participation in the development of the concept, formulation and development of key goals and objectives, data collection, analysis and interpretation of results, preparation and editing of the text, its critical revision with the introduction of valuable intellectual content

Osadchiy V.A. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9099-1351>): data collecting, participating in the drafting of the manuscript with the introduction of valuable comments of intellectual content, statistical processing of the results

Список литературы/Referents:

- Benjamin EJ, Virani S, Callaway C, et al. Heart disease and stroke statistics—2018 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2018; 137: e67–e492. doi: 10.1161/CIR.0000000000000558
- Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2016 ACC/AHA/HFSA focused update on new pharmacological therapy for heart failure: an update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the Management of Heart Failure: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *Circulation* 2016; 134: e282–e293. doi: 10.1016/j.cardfail.2016.07.001
- Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E et al. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science* 2011; 331:1078–80. doi: 10.1126/science.1200708
- Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009; 324:98–102. doi: 10.1126/science.1164680
- Behfar A, Crespo-Diaz R, Terzic A et al. Cell therapy for cardiac repair—lessons from clinical trials. *Nat Rev Cardiol* 2014; 11:232–46. doi: 10.1038/nrcardio.2014.9
- Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114:763–76. doi: 10.1016/s0092-8674(03)00687-1
- 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. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60195-0
- Miyamoto K, Akiyama M, Tamura F et al. Direct in vivo reprogramming with Sendai virus vectors improves cardiac function after myocardial infarction. *Cell Stem Cell* 2018; 22:91–103 e5. doi: 10.1016/j.stem.2017.11.010
- Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell* 2010; 142:375–386. doi: 10.1016/j.cell.2010.07.002
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410(6829):701-5. doi: 10.1038/35070587
- Hirsch A, Nijveldt R, van der Vleuten P et al. Intracoronary infusion of mononuclear cells from bone marrow or peripheral blood compared with standard therapy in patients after acute myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention: results of the randomized controlled HEBE trial. *Eur. Heart J.* 2011; 32: 1736–1747. doi: 10.1093/eurheartj/ehq449
- Hare JM, Fishman JE, Gerstenblith G et al. Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. *JAMA* 2012; 308:2369–79. doi: 10.1001/jama.2012.25321
- Dixon JA, Gorman RC, Stroud RE et al. Mesenchymal cell transplantation and myocardial remodeling after myocardial infarction. *Circulation* 2009; 120: S220–9. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.842302
- Bolli R, Tang XL, Sanganalmath SK et al. Intracoronary delivery of autologous cardiac stem cells improves cardiac function in a porcine model of chronic ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 2013; 128:122–31. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.001075
- Bolli R, Chugh AR, D'Amario D et al. Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomized phase 1 trial. *Lancet* 2011; 378:1847–57. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61590-0
- 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
- Nair N and Gongora E. Stem cell therapy in heart failure: Where do we stand today? *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020; 1866(4):165489. doi: 10.1016/j.bbadis.2019.06.003
- Leobon B, Garcin I, Menasche P, et al., Myoblasts transplanted into rat infarcted myocardium are functionally isolated from their host, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 :7808–7811. doi: 10.1073/pnas.1232447100
- Menasche P, Alfieri O, Janssens S, et al., The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation, *Circulation* 2008; 117: 1189–1200. doi: 10.1073/pnas.1232447100
- Brickwedel J, Gulbins H, Reichenspurner H. Long-term follow-up after autologous skeletal myoblast transplantation in ischaemic heart disease, *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2014; 18: 61–66. doi: 10.1093/icvts/ivt434
- Nso, N., Bookani, K.R., Enoru, S.T. et al. The efficacy of bone marrow mononuclear stem cell transplantation in patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy—a meta-analysis. *Heart Fail Rev* 2021, doi: 10.1007/s10741-021-10082-0.
- Vrtovec B, Poglajen G, Lezaic L et al. Effects of intracoronary CD34+ stem cell transplantation in nonischemic dilated cardiomyopathy patients: 5-year follow-up. *Circ. Res.* 2013; 112: 165–173. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.276519.
- Rai B, Shukla J, Henry TD et al. Angiogenic CD34 Stem Cell Therapy in Coronary Microvascular Repair—A Systematic Review. *Cells.* 2021; 10(5): 1137. doi: 10.3390/cells10051137.
- Henry TD, Losordo DW, Traverse JH et al. Autologous CD34+ cell therapy improves exercise capacity, angina frequency and reduces mortality in no-option refractory angina: a patient-level pooled analysis of randomized double-blinded trials. *Eur Heart J.* 2018; 39(23):2208–2216. doi: 10.1093/eurheartj/ehx764.
- Tongers J, Roncalli JG, Losordo DW. Role of endothelial progenitor cells during ischemia-induced vasculogenesis and collateral formation. *Microvasc Res.* 2010; 79(3):200–6. doi: 10.1016/j.mvr.2010.01.012
- Roncalli JG, Tongers J, Renault MA et al. Endothelial progenitor cells in regenerative medicine and cancer: a decade of research *Trends Biotechnol.* 2008; 26(5):276–83. doi: 10.1016/j.tibtech.2008.01.005.
- Mathiyalagan P, Liang Y, Kim D et al. Angiogenic mechanisms of human CD34+ stem cell exosomes in the repair of ischemic hindlimb. *Circ Res.* 2017; 120:1466–1476. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310557.
- Fijnvandraat AC, Van Ginneken A, Schumacher C, et al., Cardiomyocytes purified from differentiated embryonic stem cells exhibit characteristics of early chamber myocardium, *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2003; 35: 1461–1472. doi: 10.1016/j.yjmcc.2003.09.011.
- Passier R, Van Laake LW, Mummery C. Stem-cell-based therapy and lessons from the heart. *Nature*, 2008; 453: 322–329. doi: 10.1038/nature07040

30. Nussbaum J, Minami E, Laflamme M, et al., Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: teratoma formation and immune response. *FASEB J*, 2007; 21: 1345–1357. doi: 10.1096/fj.06-6769com
31. Kawamura M, Miyagawa S, Miki K et al. Feasibility, safety, and therapeutic efficacy of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte sheets in a porcine ischemic cardiomyopathy model. *Circulation* 2012;126: S29–37. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.084343.
32. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006; 126: 663–676. doi: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
33. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007; 131:861–72. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.019.
34. Guenther M, Frampton G, Soldner F, et al., Chromatin structure and gene expression programs of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2010; 7: 249–257. doi: 10.1016/j.stem.2010.06.015.
35. Shiba Y, Gomibuchi T, Seto T et al. Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts. *Nature*, 2016;538:388–91. doi: 10.1038/nature19815.
36. Tohyama S, Hattori F, Sano M et al. Distinct metabolic flow enables large-scale purification of mouse and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Cell Stem Cell*, 2013; 12:127–37. doi: 10.1016/j.stem.2012.09.013.
37. Faiella W, Atoui R. Therapeutic use of stem cells for cardiovascular disease, *Clin Transl Med*, 2016; 5: 34. doi: 10.1186/s40169-016-0116-3.
38. Isomi M, Sadahiro T, Ieda M. Progress and challenge of cardiac regeneration to treat heart failure. *J Cardiol*, 2019; 73: 97–101. doi: 10.1016/j.jjcc.2018.10.002.
39. Wada R, Muraoka N, Inagawa K et al. Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013; 110:12667–72. doi: 10.1073/pnas.1304053110.
40. Cao N, Huang Y, Zheng J et al. Conversion of human fibroblasts into functional cardiomyocytes by small molecules. *Science*, 2016;352:1216–20. doi: 10.1126/science.aaf1502.
41. Ifkovits JL, Addis RC, Epstein JA et al. Inhibition of TGFbeta signaling increases direct conversion of fibroblasts to induced cardiomyocytes. *PLoS ONE* 2014;9: e89678. doi: 10.1371/journal.pone.0089678.
42. Mohamed TM, Stone NR, Berry EC et al. Chemical enhancement of in vitro and in vivo direct cardiac reprogramming. *Circulation* 2017; 135:978–95. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024692.
43. Zhou Y, Wang L, Vaseghi HR et al. Bmi1 is a key epigenetic barrier to direct cardiac reprogramming. *Cell Stem Cell*, 2016;18:382–95. doi: 10.1016/j.stem.2016.02.003.
44. Qian L, Huang Y, Spencer CI et al. In vivo reprogramming of murine cardiac fibroblasts into induced cardiomyocytes. *Nature*, 2012; 485:593–8. doi: 10.1038/nature11044.
45. Jayawardena TM, Finch EA, Zhang L et al. MicroRNA induced cardiac reprogramming in vivo: evidence for mature cardiac myocytes and improved cardiac function. *Circ Res*, 2015; 116:418–24. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304510.
46. Miyamoto K, Akiyama M, Tamura F et al. Direct in vivo reprogramming with Sendai virus vectors improves cardiac function after myocardial infarction. *Cell Stem Cell*, 2018; 22:91–103 e5. doi: 10.1016/j.stem.2017.11.010.

Eur Heart J. 2022 Jun 28;ehac285.
doi: 10.1093/eurheartj/ehac285. Online ahead of print.

Parag Goyal, Michael Kim, Udhay Krishnan, Stephen A McCullough,
Jim W Cheung, Luke K Kim, Ambarish Pandey, Barry A Borlaug,
Evelyn M Horn, Monika M Safford, Hooman Kamel

Послеоперационная фибрилляция предсердий и риск госпитализации по поводу сердечной недостаточности

Post-operative atrial fibrillation and risk of heart failure hospitalization

Цели. Послеоперационная фибрилляция предсердий (ПОФП) связана с высоким риском развития инсульта и смерти. В настоящее время нет данных, связана ли ПОФП с последующей госпитализацией по поводу сердечной недостаточности. Это исследование направлено на изучение связи между ПОФП и госпитализацией по поводу сердечной недостаточности среди пациентов, перенесших кардиохирургические и внесердечные операции.

Методы и результаты. Было проведено ретроспективное когортное исследование с использованием данных статистики, которые включали все посещения нефедеральных отделений неотложной помощи и госпитализации по скорой помощи в 11 штатах США. Исследуемая популяция включала взрослых в возрасте не менее 18 лет, госпитализированных для хирургического лечения без ранее установленного диагноза «сердечная недостаточность». Регрессионные модели пропорциональных рисков Кокса использовались для изучения связи между ПОФП и случаями госпитализации по поводу сердечной недостаточности после внесения поправок на социально-демографические показатели и сопутствующие заболевания. Среди 76 536 пациентов, перенесших кардиохирургические вмешательства, у 14 365 (18,8%) развился эпизод ПОФП. В скорректированной модели Кокса ПОФП была связана с госпитализацией по поводу сердечной недостаточности [отношение рисков (ОР) 1,33; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,25–1,41]. В анализе чувствительности, исключающем сердечную недостаточность в течение 1 года после операции, ПОФП оставалась связанной с госпитализацией по поводу сердечной недостаточности (ОР 1,15; 95% ДИ 1,01–1,31). Среди 2 929 854 пациентов, перенесших внесердечные операции, у 23 763 (0,8%) развилась ПОФП. В скорректированной модели Кокса ПОФП вновь была связана с госпитализацией по поводу сердечной недостаточности (ОР 2,02; 95% ДИ 1,94–2,10), в том числе в анализе чувствительности, исключающем сердечную недостаточность в течение 1 года после операции (ОР 1,49; 95% ДИ 1,38–1,61).

Выводы. Послеоперационная фибрилляция предсердий связана с госпитализацией по поводу сердечной недостаточности среди пациентов без сердечной недостаточности в анамнезе, у пациентов, перенесших операции как на сердце, так и вне сердца. Эти результаты усиливают неблагоприятное прогностическое влияние ПОФП и позволяют предположить, что ПОФП может быть маркером для выявления пациентов с субклинической сердечной недостаточностью и пациентов с повышенным риском развития сердечной недостаточности.