

рии вводили мезенхимальные стволовые клетки (в разных концентрациях), либо эквивалентное количество питательной среды (контроль – фальш-операция), после чего рану вновь послойно ушивали. Для оценки электрической стабильности миокарда (ЭСМ), крыс с постинфарктным кардиосклерозом, наркотизировали и вскрывали грудную клетку в области сердца.

Определение ЭСМ осуществляли по измерению порога фибрилляции желудочков (ПФЖ), за который принимали минимальную силу тока (μA), необходимую для возникновения фибрилляции желудочков (Belichard et al., 1994). С этой целью стенку правого желудочка раздражали прямоугольным импульсом тока длительностью 2 мс, наносимым в "уязвимую" фазу сердечного цикла через биполярный электрод с помощью модифицированного кардиостимулятора ЭС-50-1 (Россия). Появление фибрилляции желудочков регистрировали на ЭКГ во втором грудном отведении (V_2) с помощью усилителя биологических потенциалов УПФ-03, персонального компьютера и пакета прикладных программ.

Через 2,5 месяца сердце извлекали, морфометрическими методами измеряли площадь образовавшегося рубца, после чего материал фиксировали в 10% растворе формалина на фосфатном буфере и проводили гистологические исследования с окраской по Ван-Гизону и Маллори (Волкова, Елецкий, 1982).

Мезенхимальные стволовые клетки выделяли из костного мозга, как было описано в главе 2, с обработкой 5-азациитидином на 3-и сутки по методу S. Makino с соавт. (1999). В результате

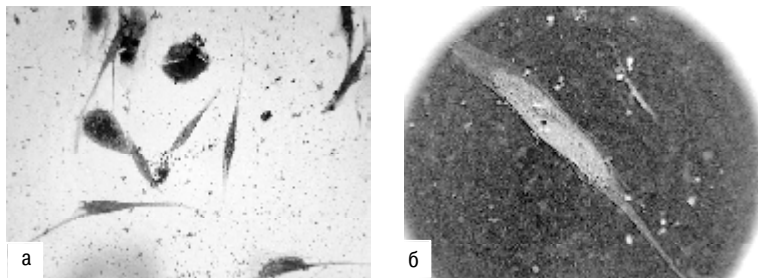


Рис. 3.18. Культура клеток костного мозга мышей линии СВА на 14-е сутки исследования: а – световая (окраска азур II-эозином, ув. 900х), б – люминисцентная микроскопия (с использованием моноклональных антител против α -актина, ув. 1000х)

этого доля клеток с миогенной дифференцировкой возрастала с 23,1 до 35,7% (рис. 3.18). Клетки вводили в разных концентрациях и разные сроки после коронароокклюзии путем инъекций вокруг зоны инфаркта в объеме 0,2 мл с помощью инсулинового шприца или внутривенно (рис. 3.21).

Выделение мононуклеаров костного мозга осуществляли из бедренной кости. С помощью шприцов и игл диаметром 0,9 мм материал гомогенизировали на однородную суспензию, пропускали через металлическую сеточку (диаметр ячеек 100 мкм) и собирали в пластиковую центрифужную пробирку. Центрифугировали в течение 15–20 мин при 2000 об./мин на центрифуге ОПН-3 ("Россия"). Надосадочную жидкость удаляли и заменяли 3–5 мл среды RPMI-1640 с 1% бычьим сывороточным альбумином (БСА) ("Sigma"). Суспензию клеток наслаивали на раствор фиколл-гипак ("Pharmacia") с плотностью 1,077 г/см³ и центрифугировали 20 мин при 2000 об./мин. Образовавшееся кольцо осторожно собирали с помощью пипетки Пастера и переносили в новую центрифужную пробирку со средой с 1% БСА и два раза путем центрифугирования (2000 об./мин – 20 мин) отмывали от градиента плотности. После чего определяли жизнеспособность мононуклеаров в камере Горяева с помощью окраски три-

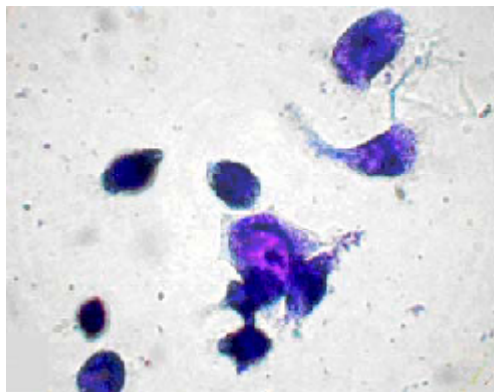


Рис. 3.19. 14-суточная культура мононуклеаров костного мозга крысы в системе культивирования *in vitro* по А.Я. Фриденштейну, К.С. Лалыкиной (1973) с модификациями. Образования кардиомиоцитов не происходит. Кроме моноцитов, лимфоцитов и гемопозитических клеток в культуре ткани не было обнаружено. Окраска азур II-зозином, ув. 900х

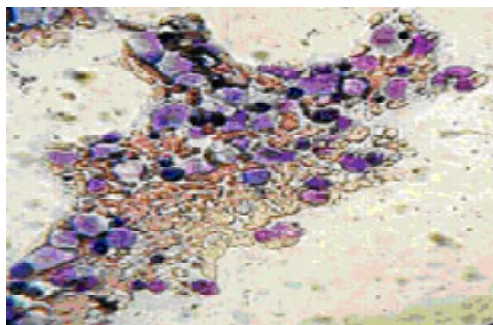


Рис. 3.20. 7-дневная культура мононуклеаров костного мозга мыши линии СВА в полувязкой среде для выявления их гемопоэтических потенций. На микрофотографии представлена колония эритромиелоидного типа. Окраска азур II-эозином, ув. 200х

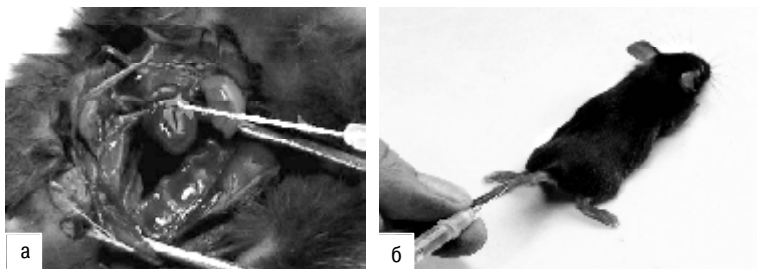


Рис. 3.21. Вутрисердечная (а) и внутривенная (б) инъекция МСК мышам линии C57Bl/6 после коронароокклюзии

пановым синим и подсчитывали клеточность (Гольдберг и др., 1992). Часть материала использовали для трансплантации. Другую исследовали на способность формировать кроветворные колонии, для чего использовали метод культивирования в 0,9% метилцеллюлозе, содержащей 80% среды DI-MEM, 20% ЭТС, 250 мг/л L-глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 1 ЕД/мл эритропоэтина, 2 нг/мл ГМ-КСФ, 40 мкг/мл гепесбуфера (все реактивы от "Sigma"). Клетки культивировали при 5% CO₂, 100% влажности, 37 °С в течение 7–14 суток.

Материал фиксировали в парах формалина и окрашивали

азур II-эозином или проводили цитохимическую реакцию на щелочную фосфатазу, пероксидазу, кислую фосфатазу, гемоглобин (Гольдберг и др., 1992).

Кроме того, из сердечной ткани готовили препараты для электронной микроскопии путем фиксации в 2% растворе глutarового альдегида до окраски осмием, уранилацетатом, заключения в аралдит и приготовления срезов по общепринятой методике (Уикли, 1975) или проводили стандартные гистологические исследования ткани миокарда по Ван-Гизону и окраску гематоксилин-эозином.

В результате проведенных исследований было установлено, что при моделировании острого инфаркта миокарда на фоне введения МСК, но не мононуклеров костного мозга, выживаемость животных составила 100%, тогда как без трансплантации стволовых клеток этот показатель составил 77,3% ($P < 0,05$).

При этом не происходило развития гипертрофии миокарда и развития сердечной недостаточности, а площадь рубца уменьшалась на 31–44% (рис. 3.22).

Следует подчеркнуть, что эффективная доза МСК составила $(0,3-0,6) \times 10^6$ мезенхимальных стволовых клеток на 11-е сутки после коронароокклюзии (рис. 3.25). По результатам электронно-микроскопических, гистологических, функциональных и морфометрических исследований установлено, что оптимальный срок для трансплантации МСК лежит между 7 и 18-ми сутками после коронароокклюзии. Ранее в миокарде преобладают некротические процессы, вызывающие гибель клеток. Позднее – фор-

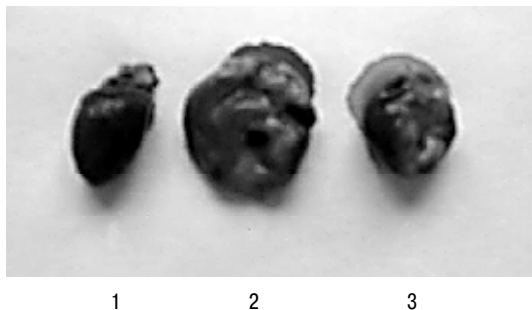


Рис. 3.22. Сердце здоровой крысы (породы Вистер) (1) и через 2,5 месяца после коронароокклюзии без (2) и с введением МСК (3)

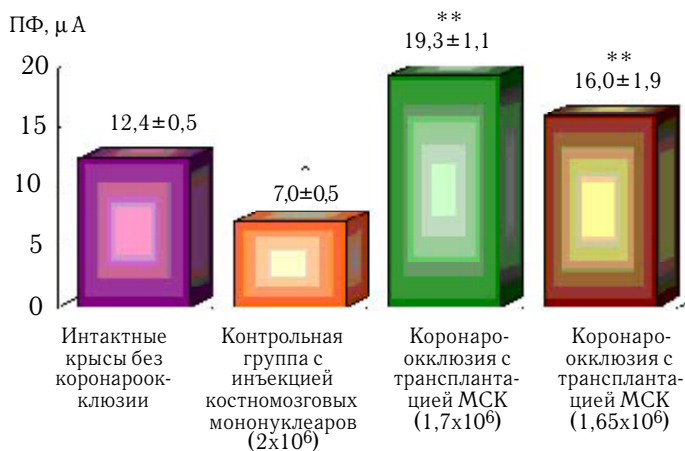


Рис. 3.23. Порог фибрилляции миокарда крыс породы Вистер после коронароокклюзии и введения МСК (* – $P < 0,05$ по сравнению с интактными животными, ** – $P < 0,05$ по сравнению с контролем, введением 5×10^6 мононуклеаров костного мозга)

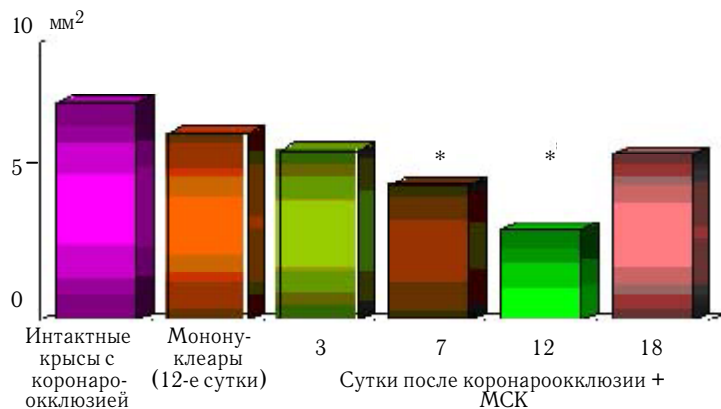


Рис. 3.24. Площадь рубца в зависимости от сроков введения МСК ($0,3 \times 10^6$) и мононуклеаров костного мозга (5×10^6), 12-е сутки) на 3, 7, 12 и 18-е сутки после коронароокклюзии (* – $P < 0,05$). Крысы породы Вистер

мируются стойкие рубцовые изменения. Мононуклеары костного мозга такой способностью не обладали (рис. 3.23–3.26). Они

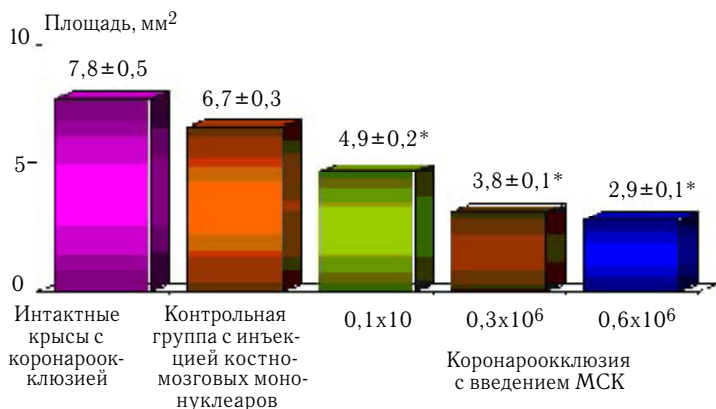


Рис. 3.25. Площадь рубца в миокарде мышей линии после введения МСК на 11-е сутки после коронароокклюзии (* – $P < 0,05$)

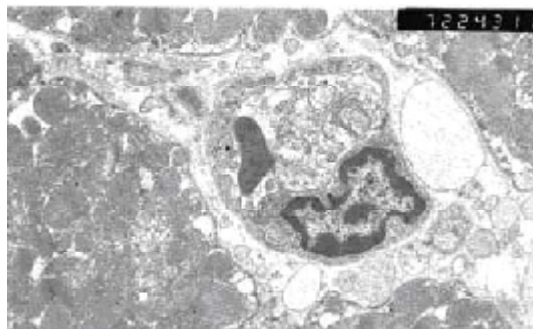


Рис. 3.26. Электронная микроскопия ткани миокарда после коронароокклюзии и трансплантации в ткань сердца мононуклеарных клеток костного мозга. На микрофотографии представлен активно фагоцитирующий макрофаг. Ув. 7200х

стимулировали процесс появления в поврежденном миокарде макрофагов, активно фагоцитирующих клеточные обломки и ангиогенез (рис. 3.26, 3.27, табл. 3.2).

Если мононуклеары костного мозга содержали достаточное число кроветворных колониеобразующих единиц (КОЕк), то ад-

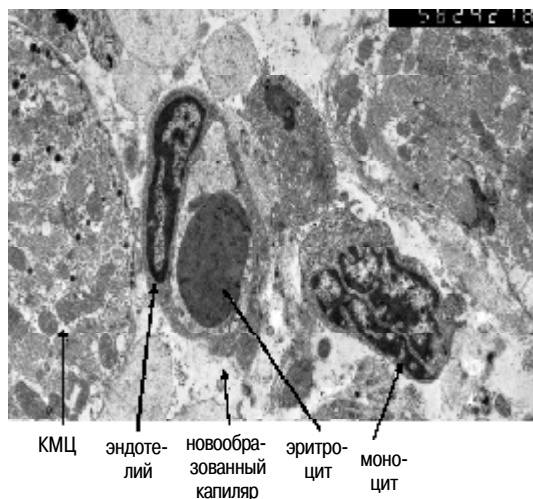


Рис. 3.27. Электронная микроскопия ткани миокарда после коронароокклюзии и трансплантации в ткань сердца мононуклеарных клеток костного мозга. На микрофотографии представлен новобразованный капилляр. Ув. 5800х

Таблица 3.2

Влияние коронароокклюзии и введения МСК или мононуклеаров костного мозга на количество микрососудов в миокарде крыс породы Вистар на 24-е сутки опыта ($\bar{X} \pm n$, Pt)

Здоровые животные	После коронаро- окклюзии (опытная группа)	После коронаро- окклюзии и введения МСК	После коронаро- окклюзии и введения МСК
100%	$41,3 \pm 3,3\%$	$75,8 \pm 4,1\%*$	$55,9 \pm 1,7\%*$

Примечание: * – $P < 0,05$ по сравнению с опытной группой.

гезирующие клетки 14-суточной культуры, напротив, практически были лишены гемопоэтических клеток-предшественников. С другой стороны, для мононуклеаров костного мозга статистически значимых значений по отношению к КОЕф также выявлено не было, т.е. они не содержали МСК (табл. 3.3).

В результате трансплантации МСК подопытным животным

Таблица 3.3

**Количество кроветворных и фибробластоподобных
колониеобразующих единиц (КОЕк, КОЕф), выявляемых in vitro инкубации
мононуклеаров костного мозга или 14-суточной культуры адгезирующих клеток
костного мозга мышей линии СВА ($\bar{X} \pm n$, Pt)**

Количество вводимых клеток, $\times 10^5$ /мл	КОЕк, $\times 10^4$		КОЕф, $\times 10^5$	
	Моно- нуклеары	Адгезирующие клетки	Моно- нуклеары	Адгезирующие клетки
0,1	12,1 $\pm$ 1,6*	0	0	5,5 $\pm$ 1,1**
0,5	34,3 $\pm$ 2,9*	0,3 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 1,1	21,3 $\pm$ 3,3**

Примечание: * – Pt <0,05 для КОЕк, ** – Pt <0,05 для КОЕф.

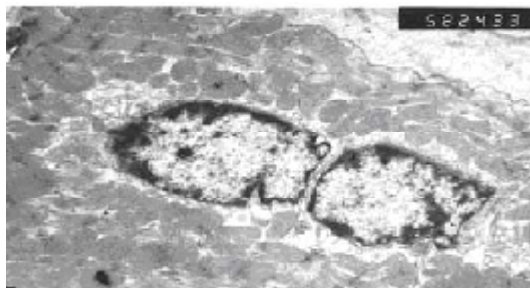


Рис. 3.28. Делящийся кардиомиоцит в периинфарктной зоне инфаркта на фоне введения МСК, после коронароокклюзии. Электронная микроскопия, ув. 5800х

на 11-е сутки после коронароокклюзии в ткани регенерирующего миокарда наблюдались деления КМЦ (рис. 3.28).

Внутривенное введение в наших опытах как МСК, так и мононуклеаров костного мозга, не выявило каких-либо достоверных позитивных изменений со стороны ткани миокарда и его функциональных свойств после коронароокклюзии в опытах как на мышах, так и на крысах

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что костномозговые мезенхимальные клетки, но не мононуклеары данного органа, способны в условиях моделирования острого инфаркта миокарда и кардиосклероза восстанавливать функцию поврежденного миокарда, способствовать инволюции

рубцовой ткани и препятствовать развитию гипертрофии миокарда. Мононуклеары костного мозга стимулируют воспалительные реакции в поврежденном миокарде и процессы ангиогенеза.

3.5. ГИПОТЕЗА ОБ УЧАСТИИ МСК В РАЗВИТИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Атеросклеротическая бляшка представляет собой морфологический субстрат данного заболевания. Согласно современным представлениям, в ее формировании важную роль играют как нарушения липидного обмена, так и изменения со стороны сосудистой системы. Следует отметить, что высокое содержание холестерина в крови отсутствует у 50% лиц, страдающих атеросклерозом (Шутов, 1966). Тем не менее, зоны так называемой липидной инфильтрации интимы сосудов могут являться предвестниками возникновения бляшки. Именно в этих участках происходит миграция моноцитов в липидные полосы, где они трансформируются сначала в макрофаги, имеющие рецепторы к ЛПНП, а затем — в пенистые клетки. Считается, что пенистые клетки способны выделять биоактивные субстанции, которые вызывают хоминг гладкомышечных клеток из глубоких участков сосудов. Хотя при этом нельзя исключить и того, что СГМК могут происходить из мезенхимальных стволовых клеток, которые также способны входить в состав стенок сосудов или мигрировать из крови, особенно на фоне воздействия экстремальных факторов и стресса. В любом случае возникновение агрегатов гладкомышечных клеток приводит к формированию небольших выпячиваний эпителия в просвет сосудов. Дальнейшая эволюция бляшки осуществляется за счет появления в них фибробластов, секретирующих коллаген и эластических волокон (рис. 3.29). Образование объемных структур на стенках сосудов приводит к изменениям ламинарного потока крови, который становится турбулентным. Возникновение при этом завихрений сопровождается агрегацией эритроцитов и возникновением тромбов. По своей сути агрегацию клеток красной крови можно расценивать как начальный этап локального тромбоза и кровоизлияние. Сгустки крови, как хорошо известно, способны к формообразованию с образованием эктопических очагов костеобразования — остеонидов (Меерзон, 1968; Миронов и др., 1997).

Как происходит процесс насыщения поверхностного слоя бляшки солями кальция и фосфора — остается не совсем понят-

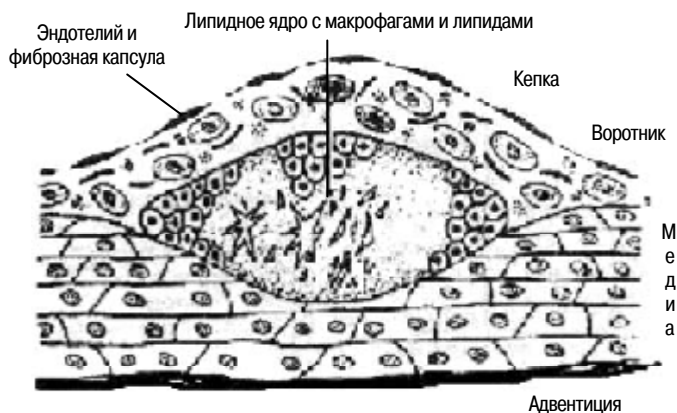


Рис. 3.29. Атеросклеротическая бляшка. "Мягкая" атеросклеротическая бляшка в начале процесса дестабилизации. Фиброзная капсула еще не подверглась воспалению и не подточена ферментами (по А.П. Андрееву, 2000)

ным. Хорошо известен тот факт, что при формировании атеросклеротической бляшки на заключительном этапе ее развития в ее составе определяются кальций и фосфор. Химический состав, приводимый различными авторами, не позволяет сделать окончательный вывод, к какому классу биологических КФ они относятся. Это принципиальный вопрос, так как ответ на него позволит определить, к какой гистогенетической линии относятся клетки, входящие в состав бляшки, и на основании полученных данных определить патогенез всего процесса.

В связи с этим мы провели эксперименты, в которых исследовали состав минеральной составляющей кальцифицированных атеросклеротических бляшек, полученных из аорты во время проведения патологоанатомического вскрытия. Средний возраст умерших лиц составлял 60–70 лет. Материал был взят преимущественно у мужчин.

Индивидуальные атеросклеротические бляшки помещали в фарфоровые тигли и подвергали термической обработке в муфельной печи при 800 °С до полного удаления органических включений. После чего материал измельчали до получения однородного порошка. Его состав анализировали с помощью рентгеновского рефрактометра "ДРОН-ЗМ". Условия проведения съемки: использовали катод "Cu", при напряжении 35 кВ и силе

тока 25 мА, $\tau = 1$ с., скорости съемки 2 °/мин, чувствительности 1×10^3 . Данные обрабатывали с помощью программы "Origin

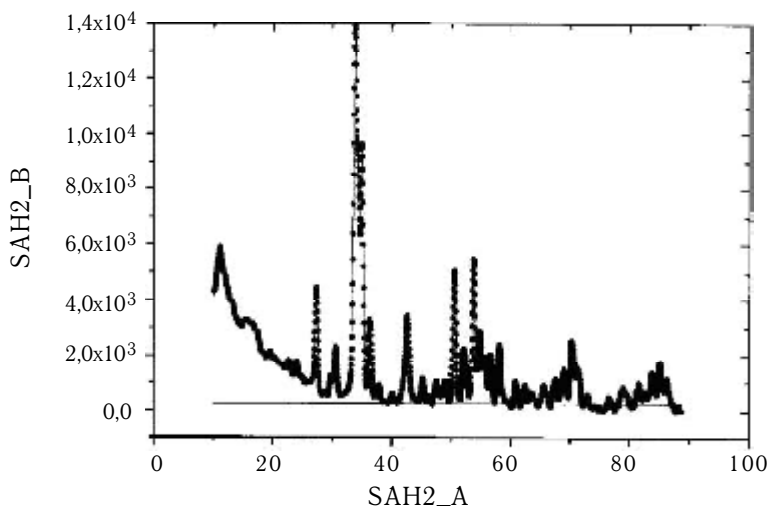


Рис. 3.30. Спектр минерального состава атеросклеротической бляшки, выделенной из аорты И., 76 лет. Данный спектр характерен для высококристаллического гидроксилапатита

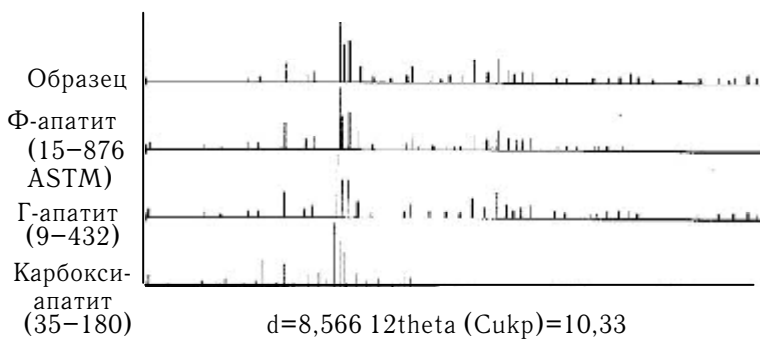


Рис. 3.31. Сравнительный спектр тестируемого образца с эталонами ASTM: Ф-апатит – фторапатит; Г-апатит – гидроксилapatит и карбоксиapatит. Хорошо видно, что исследуемая ткань соответствует гидроксилapatиту

Pro 7.0". Сравнение рентгенограмм осуществляли по стандартам ASTM.

В результате проведенных исследований было установлено, что основным компонентом атеросклеротических бляшек был высококристаллический гидроксилapatит ($98,3 \pm 1,2$) (рис. 3.30, 3.31).

Он не является ни фторапатитом, ни карбонатной формой гидроксилapatита, на что указывают данные сравнительного анализа тестируемого материала и вышеупомянутых соединений. Гидроксилapatит в организме встречается преимущественно в костной ткани. Иногда он выявляется в зонах эктопического костеобразования, возникающих, например, при травмах, операциях в области гематом (Корж, 1963; Миронов и др., 1997). Эти данные позволяют предположить, что при атеросклерозе в бляшку попадают МСК и под действием специфического микроокружения начинают дифференцироваться в остеоидную ткань.

Ранее нами при изучении поведения кальциофосфатных (КФ) биоматериалов для нужд травматологии и ортопедии была высказана гипотеза о так называемой опосредованной остеоиндукции (Shahov et al., 2000). В соответствии с выдвинутым предположением, феномен эктопического образования остеогенной тка-

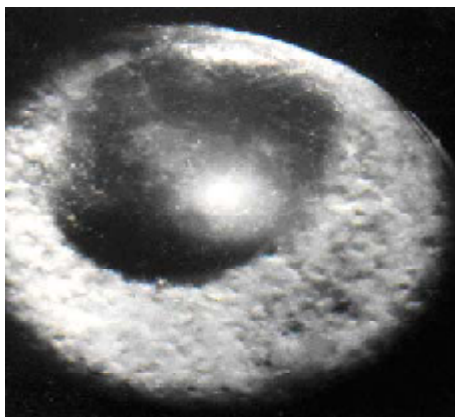


Рис. 3.32. Микрофотография препарата гидроксилapatитовой керамики (диаметр пор 200–300 мкм) на 40-е сутки после имплантации костного мозга мышей линии СВА. Нативный препарат. На поверхности в виде овального объекта представлена незрелая остеоидная ткань. Ув. 20х

ни на КФ поверхностях при имплантации их в мягкие ткани представляет собой опосредованный механизм. Сами по себе КФ не обладают прямыми остеоиндуктивными свойствами. В частности, при введении под кожу лабораторных животных КФ адсорбируют протеины, ростовые факторы и цитокины, а также взаимодействуют с макрофагами, лимфоцитами, создавая специфическое микроокружение для прикрепления МСК, находящихся в окружающей ткани. В результате происходит их рекрутирование в направлении остеогенеза со стимуляцией процессов пролиферации и дифференцировки, образованием костной ткани (рис. 3.32).

Следует подчеркнуть, что данный феномен проявляется не на всех КФ материалах, а только при соблюдении определенных условий, часть из которых мы уже отметили. Более детальную информацию по данной проблеме можно найти в нашей монографии, вышедшей в 2001 г. (Карлов, Шахов, 2001).

Следует отметить, что если в атеросклеротической бляшке образуются высококристаллические частицы гидроксилapatита, то такой процесс становится необратим, т.к. константа растворения данной формы кальциофосфатов в биологических жидкостях, к каковому относится и кровь, практически равна нулю (LeGeros, 1981).

Для проверки предположения о том, что МСК способны формировать на атеросклеротической бляшке остеоид, мы провели серию экспериментов и тестировали фрагменты аорты, полученные после вскрытия у больных с атеросклерозом. Использовали неповрежденные и поврежденные участки аорты, которые очищали от прилегающих тканей от одного и того же больного. Вырезали небольшие квадраты со сторонами около 0,7х0,9 см.

Костный мозг получали из бедренной кости самцов мышей линии С57В1/6 путем вымывания средой D-МЕМ с 5% ЭТС ("Sigma") с помощью шприца. На внутренней поверхности участка аорты формировали из костного мозга небольшой агрегат (рис. 3.33) и имплантировали под кожу другой партии мышей той же линии (рис. 3.34).

Через 1–1,5 месяца после имплантации животных забивали, осторожно извлекали исследуемые участки аорты, проводили морфометрию площади образовавшегося из костного мозга очага в опытной (поврежденной атеросклерозом, бляшками) и контрольной (неповрежденной атеросклерозом) группах (рис. 3.35). Из результатов исследований, представленных в табл. 3.4, видно, что на участках с явными признаками атеросклероза процесс

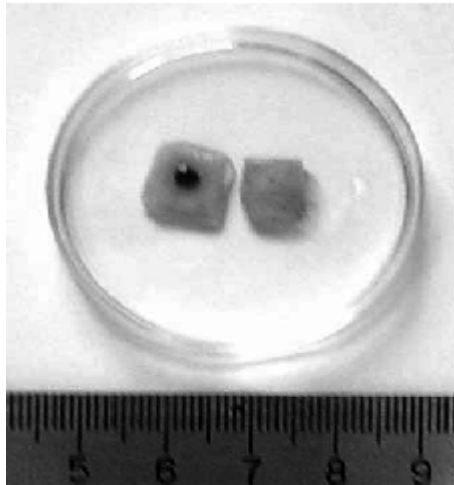


Рис. 3.33. Фрагменты аорты на одном из которых нанесен фрагмент костного мозга мыши линии C57Bl/6 перед имплантацией



Рис. 3.34. Момент введения костного мозга мыши линии C57Bl/6, расположенного на атеросклеротической "бляшке" фрагмента аорты, под кожу реципиента

эктопического костеобразования идет более интенсивно и превышает таковой у контрольной группы в 2,3 раза.



Рис. 3.35. На рисунке виден фрагмент аорты (с признаками атеросклероза) на котором в виде бугристой поверхности выросла эктопическая остеидная ткань из костного мозга мыши линии C57Bl/6 на 30-е сутки после имплантации

Таблица 3.4

Площадь исходного костного мозга и эктопического очага (S), образовавшегося из костного мозга мышей линии C57Bl/6 очага в опытной (участок атеросклеротической бляшки) и контрольной (без морфологических признаков атеросклероза) группах, на поверхности фрагментов аорты на 30-е сутки исследований ($\bar{X} \pm m$)

№/№	Группа животных	S костного мозга (мм ²) до введения	S эктопического очага (мм ²)
1	Опыт	$8,1 \pm 0,3$	$28,5 \pm 1,1^*$
2	Контроль	$8,1 \pm 0,3$	$12,3 \pm 2,5^*$

Примечание: * – значения между площадью образовавшегося эктопического очага на участках орты с атеросклерозом и без него, равным $P < 0,05$.

Часть материала подвергали гистологическому исследованию после декальцификации с окраской гематоксилином по стандартной методике. В результате исследований было обнаружено, что на поверхности атеросклеротической бляшки формируется незрелая остеидная ткань (рис. 3.36).

Образование костной ткани в меньшей степени на "неповрежденном" участке аорты может быть вызвано тем, что и эта территория была поражена атеросклеротическим процессом, который морфологически пока еще никак не проявлялся.

Интересно, что высококристаллические микрочастицы гид-

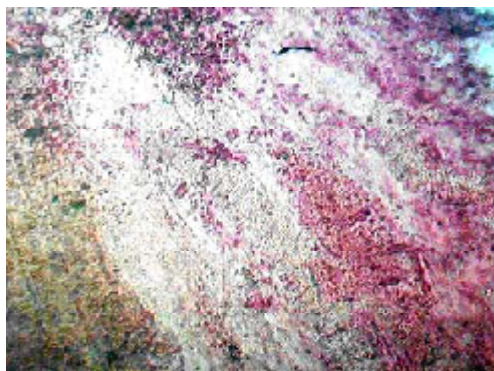


Рис. 3.36. Гистологический препарат образования незрелой остеοидной ткани, выросшей из костного мозга мыши линии C57Bl/6 на поверхности участка аорты, пораженной атеросклеротической бляшкой на 30-е сутки исследования. Окраска гематоксилином, ув. 400х

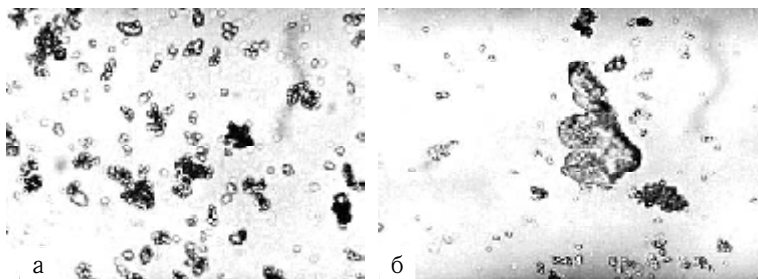


Рис. 3.37. Кристаллы гидроксилатапита помещены в солевую среду, имитирующую состав плазмы крови до (а) и после (б) 5-суточной инкубации при 37°C. Ув. 40х

роксилапатита при помещении их в среды, имитирующие состав биологических жидкостей, приводят к развитию процесса эндогенной кристаллизации с ростом частиц и образованием крупных кристаллов и агрегатов кальциофосфатов (Карлов, Шахов, 2001) (рис. 3.37).

Таким образом, представленные данные достаточно убедительно свидетельствуют о том, что кальциофосфаты на поверхности атеросклеротической бляшки, возможно, на вовлеченной

в этот процесс поврежденной стенке аорты, могут взаимодействовать с мезенхимальными стволовыми клетками и включать процесс эктопического костеобразования. Очевидно, что этот процесс осуществляется за счет процессов опосредованной остеоиндукции (Шахов и др., 1999). Однако мы не знаем, в какой момент своего развития атеросклеротическая бляшка становится привлекательной для циркулирующих МСК. Может быть, именно из-за того, что данная категория родоначальных клеток способна осаждаться на атеросклеротической бляшке, существует своеобразный запрет на выход МСК из костного мозга в кровь, т.к. в обычных условиях они в ней не обнаружены. Если это так, то тогда все манипуляции со стволовыми клетками, вводимыми в сосудистое русло или появляющимися там в результате мобилизирующих агентов, например, типа КСФ, чрезвычайно опасны для пациентов с атеросклерозом. Получив тактическую выгоду, можно позднее принять стратегический патологический удар в виде генерализации и усиления данного заболевания.

Процесс остеоидных превращений в склеротической бляшке позволяет во многом объяснить, почему у мужчин атеросклероз развивается раньше и часто бывает интенсивней по сравнению с женщинами. Хорошо известен тот факт, что эстрогены снижают содержание кальция в крови, тогда как тестостерон, напротив, повышает. Поэтому женщины чаще болеют остеопорозом, чем мужчины. Как показывают наши исследования, кальций необходим не только для построения костей, но и бляшек. Учитывая это, возможно, имеется необходимость пересмотра тактики лечения атеросклероза, по крайней мере, у мужчин, с помощью, например, комплексонов или гормональных препаратов нового поколения.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Конец XX века ознаменовался, по мнению журнала Science (1999), тремя принципиальными открытиями в области биологии и медицины:

1. Расшифровка двойной спирали ДНК.
2. Определение генома человека.
3. Открытие ЭСК человека и животных.

Из эпохи классической медицины, наивысшим достижением которой в области кардиологии явилась пересадка сердца и даже сердечно-легочных комплексов, в результате последнего открытия мы плавно перешли в эру регенераторной биомедицины. Чрезвычайная пластичность стволовых клеток, их способность к дифференцировке в разнообразные клеточные линии и к длительному самовоспроизводству сулит в ближайшем будущем огромные перспективы. В кардиологии пока еще делаются первые шаги в этом направлении. Они ограничиваются единичными попытками реконструкции поврежденного миокарда и сосудов с помощью стволовых клеток. Следующим этапом, очевидно, станет построение органоидов и структурно-функциональных единиц, которые уже сами по себе являются сложными микросистемами, способными анализировать ситуацию и выполнять простейшие операции, требующие принятия правильных решений. В какой-то мере этим критериям соответствуют выявленные нами мезенхимальные островки. В конечном счете, эволюция регенераторной и клеточной медицины подразумевает полную реконструкцию не только клапанов, желудочков, аорты, водителей ритма, элементов проводящей системы, но и всего сердца, а также таких органов, как почки, печень, легкие, нервная ткань и т.д. Наиболее вероятно, что новые системы будут ком-

бинированы с биоинженерными конструкциями и интеллектуальными материалами, содержащими микрочипы, в том числе и биологические. В качестве практического примера можно привести создание принципиальной модели биосистем, идеологом которых является директор НИИ медицинских материалов и имплантантов с памятью формы г. Томск, профессор В.Э. Гюнтер, разрабатывающий на протяжении многих лет чрезвычайно интересный, на наш взгляд, материал – никелид титана. Нами совместно с сотрудниками НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН были проведены эксперименты, в которых в качестве своеобразного инкубатора для МСК использовали пористый никелид титана. Никелид титана представляет собой уникальный материал, который благодаря гистерезису способен изменять свои пластические свойства и обладает памятью формы. Эти особенности лег-

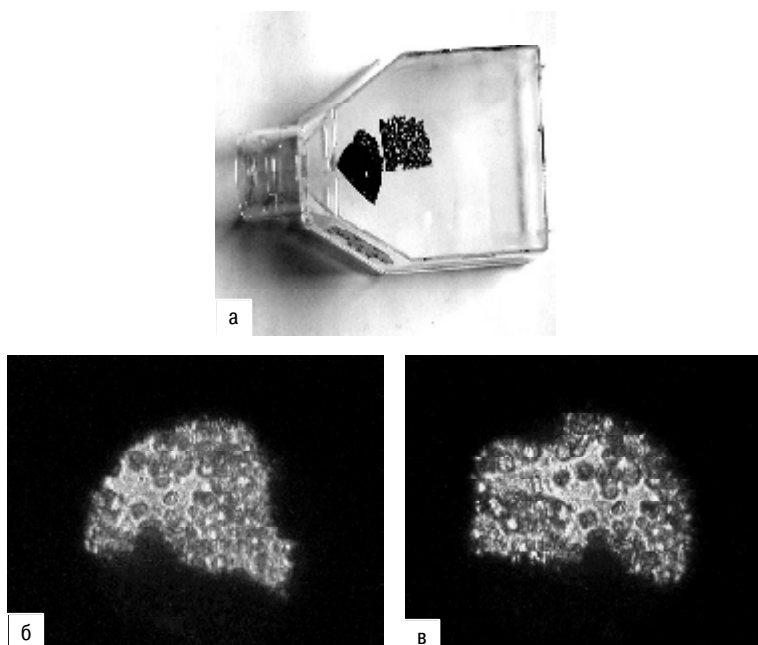


Рис. 4.1. Культура клеток костного мозга мышей линии СВА на пористом никелиде титана: а – макропрепарат, б и в – микропрепараты (отдельные поры с МСК), 10-е сутки культивирования с мезенхимальными клетками в порах, ув. 200х

ли в основу разработки многочисленных медицинских изделий, успешно применяемых как у нас в стране, так и за рубежом (Гюнтер и др., 1992, 1998). Оказалось, что МСК достаточно хорошо могут быть встроены в пористую структуру никелида титана при культивировании и формировать биомиметические системы (рис. 4.1).

Теоретически такие объемные структуры могут найти самые разнообразные клинические применения: например, при пластике стенок миокарда, сосудов при аневризме, при протезировании аорты и т.п.

Следует подчеркнуть, что мы стоим только в начале этого сложного пути. Именно сейчас выдвигаются новые гипотезы, разрабатываются оригинальные технологии и идет накопление огромного фактического материала. Однако мы еще не достигли критической массы знаний даже для решения такого узкого вопроса, как лечение острого инфаркта миокарда. Требуется проведение фундаментальных работ в этом направлении кардиологии. Пока мы можем говорить лишь об основных направлениях, тенденциях, проверять в эксперименте и на практике первые результаты исследований.

Как мы уже говорили во введении, перед началом выполнения данной работы мы хотели для себя понять, почему в одних случаях трансплантация МСК является достаточно успешной процедурой, а в других — нет. Для этого мы решили для себя определить:

- Какое количество МСК, способных к кардиомиогенной и ангиогенной дифференцировке, содержится в используемом материале?
- Как увеличить число МСК с нужными (кардиомиогенными, ангиоогенными) свойствами?
- В какие сроки трансплантация МСК является наиболее оптимальной при лечении острого инфаркта миокарда?
- Сколько МСК следует вводить для проведения клеточной терапии?
- Какой использовать способ доставки МСК в поврежденный миокард, чтобы получить выраженный терапевтический эффект?

Анализируя полученные данные, мы установили, что использование клеток костного мозга при лечении острого инфаркта миокарда может стать обычной рутинной процедурой, если проводить ее правильно и своевременно. В любом случае клеточная

терапия способна существенно улучшить качество жизни пациента, остановить или, по крайней мере, замедлить развитие кардиосклероза, гипертрофии сердца и СН.

Достаточно условно клеточную терапию острого инфаркта миокарда можно подразделить на два основных патогенетических метода, в зависимости от того, какие клетки используют при ее проведении:

1. Специфическую, с использованием аутологичных МСК костного мозга (возможно, и жировой ткани), при дефекте костного мозга.
2. Неспецифическую, с применением аутологичных моноклеаров костного мозга.

В первом случае используют культуру перепрограммированных мезенхимальных клеток костного мозга с усилением в них способности к образованию кардиомиоцитов и сосудистых клеток, которые при попадании в миокард способны к пролиферации и делению с образованием специализированных кардиомиоцитов и сосудистых клеток, а также, вероятно, продуцированию многочисленных ростовых факторов и цитокинов, обеспечивающих процессы репаративной регенерации. Своевременная трансплантация МСК приводит к уменьшению рубца, улучшению сократимости и электрофизиологических свойств миокарда, улучшению его оксигенации, снижению гипертрофии сердца.

Во втором случае вводят моноклеары костного мозга, в которых доля МСК минимальная, а потому они не восстанавливают миокард. Однако они способны стимулировать процесс образования новых сосудов, тем самым улучшая оксигенацию миокарда (стимуляция ангиогенеза, усиление продукции цитокинов, ростовых факторов, усиление воспалительного процесса). Устранения рубцовой ткани не происходит.

Теоретически оба подхода можно проводить в комбинации, ожидая развития эффекта потенцирования. Например, первоначально больному вводят моноклеары костного мозга с целью увеличения числа сосудов и подготовки необходимого микроокружения для последующей трансплантации МСК. Возможны и другие варианты. Однако все это требует глубокого и детального изучения.

Другим важным выводом оказалось то, что в организме существует строго определенная константная скорость развития склеротических изменений в миокарде, развивающихся, по-видимому, по каскадоподобному механизму и с практически не из-

меняющимся вектором развития. После стадии воспаления, стресса, адаптации и деадаптации, в силу того, что в миокарде практически нет МСК или других элементов, способных образовывать кардиомиоциты, начинают активироваться процессы стромогенеза с образованием рубца. Для того, чтобы переключить процессы кардиосклероза на путь формирования нового миокарда, МСК следует вводить в строго определенный период времени. Если трансплантацию осуществлять сразу после острого инфаркта, то воспаление, ишемия, гипоксия в поврежденном миокарде в сочетании с выбросом протеолитических ферментов и других факторов приведут к тому, что основная часть МСК погибнет или покинет сердце. В более поздние сроки, когда необратимо активируются процессы фибриллогенеза, стволовые клетки не могут попасть в перинфарктную зону, встроиться в существующие ниши для стоволовых клеток (их уже заняли предшественники фибробластов) и заместить, насколько это возможно, рубцовую ткань. Более того, благодаря своей пластичности и под действием, например, ФРФ они легко могут трансформироваться в стромальные или гладкомышечные клетки, усилив тем самым развитие кардиосклероза. Оказалось, что в опытах над животными оптимальные сроки трансплантации МСК лежат между 6–7 и 14–18-ми сутками. Более раннее или, напротив, позднее введение МСК животным с острым инфарктом миокарда малоэффективно.

Другой, не менее важный теоретический вопрос связан с тем, какое количество клеток требуется ввести в сердечную ткань. Согласно литературным данным, при введении фетальных кардиомиоцитов в поврежденный миокард существует определенный количественный предел, после которого их эффект не возрастает (Потапов и др., 2001). Так, после пересадки изогенных новорожденных КМЦ в криповрежденный крысиный миокард через 18 часов погибало до 45% трансплантируемых клеток. Пул оставшихся клеток в динамике нарастал довольно медленно, если вводилось 3–10 млн клеток, а при пересадке 10–25 млн КМЦ их количество далее не увеличивалось (Zhang et al., 1999). Согласно литературным данным, только около 10–20% МСК костного мозга способны спонтанно трансформироваться в мышечные клетки (Makino et al., 1999). Под действием разнообразных дифференцировочных факторов можно увеличить эту величину втрое.

В наших опытах мы использовали 5-азациитидин в сочетании с другими факторами. Оказалось, что если к индукции МСК в

миоциты в контрольной группе оказались способны $14,7 \pm 2,3\%$, то после обработки дифференцирующими факторами этот показатель достоверно возрос до $33,9 \pm 3,1\%$.

Далее, при инъекциях перепрограммированных МСК в перинфарктную зону в различных дозах было установлено, что наиболее эффективное число этих клеток составляет около $(1-10) \times 10^4$ на мм^3 миокарда.

Не менее актуальным вопросом является выбор оптимального пути введения МСК. Возможные пути доставки МСК к сердечной ткани представлены на рис. 4.2.

В наших опытах было обнаружено, что внутривенное введение прогениторных клеток практически не влияет на процесс

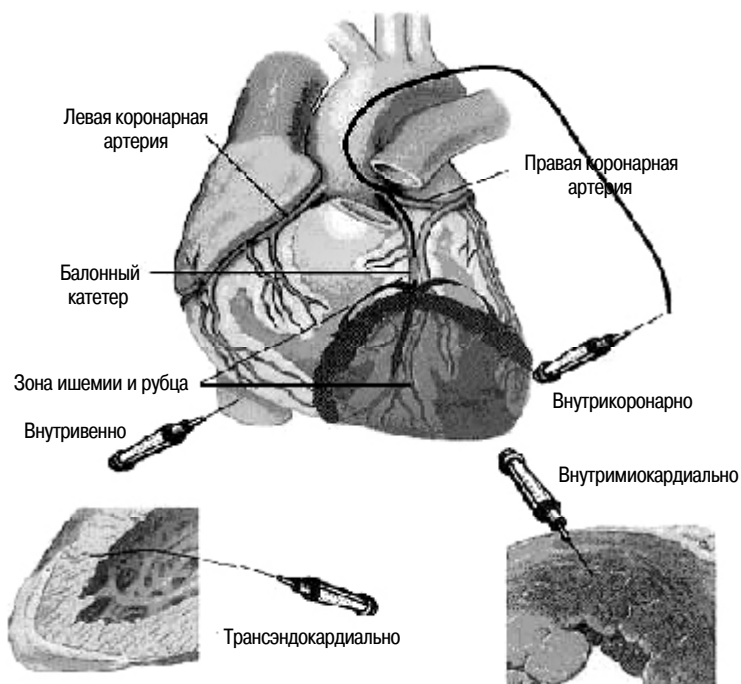


Рис. 4.2. Возможные пути введения стволовых клеток в поврежденную сердечную ткань при остром инфаркте миокарда

развития кардиосклероза после коронароокклюзии, а также не предотвращает развития гипертрофии миокарда и снижения его функциональных свойств. Мы использовали только клетки, меченные ^3H -тимидином. Оказалось, что при внутривенной трансфузии МСК их количество не превышало такового в других мышечных тканях (бедро) и составляло около 1–2%, тогда как внутрисердечное введение повышало этот показатель (через сутки после инъекции) до 33–35%. На основании этих данных можно сделать вывод о том, что адресное внутрисердечное введение является наиболее оптимальным методом доставки МСК в миокард, что согласуется с данными других авторов. Анализ литературных данных указывает на то, что региональное введение МСК через коронарные артерии может занимать промежуточное значение между первым (внутривенным) и вторым (внутрисердечным) методами. Однако таких исследований мы не проводили.

На наш взгляд, наиболее целесообразно не подвергать пациента дополнительной хирургической травме, которая происходит при операциях на открытом сердце, а вводить МСК в сердечную ткань с помощью разнообразных экстракорпоральных систем. Этому взгляда придерживаются многие кардиологи. Учитывая это, мы совместно с медицинской промышленной компанией "Электропульс" (г. Томск) разработали на базе существующей системы для электрофизиологических исследований сердца и абляции (рис. 4.3) оригинальный аппаратный комплекс, позволяющий не только картировать миокард, выявлять зоны повреждения, но и доставлять МСК непосредственно в поврежденную ткань. Системы "Элкарт" и "Элкарт-Навигатор" хорошо себя зарекомендовали и прекрасно известны кардиологам. Это обстоятельство позволяет надеяться на скорое применение данной системы для доставки МСК в поврежденное сердце и быстрое овладение этой методикой специалистами.

Несмотря на многочисленные достаточно оптимистические настроения (основанные на результатах лабораторных исследований), которые имеются у кардиологов, успехи в области практического применения данных клеточных технологий на практике пока еще очень скромные. Как правило, СК вводятся на фоне других воздействий – стентирования, баллонной ангиографии, коронарорешунтирования и т.п. Поэтому неясно, какая манипуляция вносит основной вклад в улучшение состояния миокарда при инфаркте. Аргументы, выдвигаемые на уровне того, что больной не умер, явных осложнений после операции не выявлено, а



Рис. 4.3. Аппаратная часть (а) и непосредственный катетер (б) для доставки МСК в поврежденный миокард через бедренную артерию

его самочувствие вроде бы даже улучшилось, в большинстве случаев носит субъективный, а не доказательный характер.

Та скорость, с которой клеточные технологии с использованием стволовых клеток внедряются в клиническую практику, вносит озабоченность у серьезных исследователей и кардиохирургов. Часто они не обоснованы патогенетически, проводятся специалистами, поверхностно знающими принципы регенераторной медицины, без учета индивидуальных особенностей организма и знания развития возможных негативных последствий проводимых манипуляций. Осложнения могут возникнуть, если с клетками будут работать непрофессионалы: например, плохо отмыв от среды, сыворотки криопротектора, ее загрязнение микроорганизмами может вызвать не только развитие воспалительных, но и аллергических реакций, вплоть до анафилактического шока.

Почему-то, несмотря на все достижения в химии, биотехнологии и клеточно-молекулярной биологии, сроки внедрения лекарственных препаратов в практику от момента возникновения идеи или концепции до практического внедрения в среднем составляют 7–10 лет.

Другим более близким примером является развитие трансплантации гемопоэтических стволовых клеток больным с заболеваниями крови (Румянцев, Масчан, 2003). Стандартной общеклинической методикой она стала только спустя 30 лет после первых попыток ее использования G. Mathe et al. (1971) и E. Thomas et al. (1975), за что последний получил Нобелевскую премию в 1990 г.

Стволовые клетки можно рассматривать как своеобразный биопрепарат, открытие которого для нужд кардиологии произошло только в 1999 г. Длительность наблюдений в эксперименте, как правило, не превышает одного года. Это чрезвычайно мало для выявления отдаленных негативных реакций. Мы не знаем, что произойдет в организме больного через 3 года и более после введения СК.

Очевидно, это понимает большинство серьезных исследователей, о чем свидетельствует тот факт, что общее число клинических использований СК для лечения инфаркта миокарда не превышает в настоящее время 200–300 случаев.

Обобщая имеющуюся информацию, можно сделать следующие выводы.

- Использование МСК для клеточной терапии острого инфаркта миокарда не является панацеей, с помощью которой можно

превратить всю фиброзную ткань в мышечную и полностью устранить рубец.

- Существуют строгие показания и противопоказания для проведения клеточной терапии.
- Трансплантация МСК в оптимальные сроки способствует увеличению количества кардиомиоцитов и числа вновь образуемых сосудов в пораженной сердечной ткани.
- Инволюция рубца происходит только при своевременном, адресном и строго определенном количестве вводимых МСК.
- Использование моноклеаров костного мозга сопровождается усилением ангиогенеза, оксигенации миокарда без замещения рубцовой ткани. Образование новых кардиомиоцитов не происходит.

Еще раз хочется подчеркнуть, что для всестороннего анализа использования СК в кардиологии требуется обработка информации от тысяч больных, наблюдение которых следует проводить в течение многих лет. Возможно, для интенсификации этого процесса следует, по аналогии с другими разделами медицины, создать единый национальный регистр использования СК в кардиологии под патронажем крупных медицинских центров. Именно с помощью национального регистра можно достаточно быстро собрать и проанализировать информацию о применении клеточных и критических технологий при лечении сердечно-сосудистых заболеваний. Участники данного проекта будут не только обмениваться своими достижениями и технологиями, но и оперативно получать всю необходимую информацию от других учреждений и сравнивать свои результаты со средними показателями по данному методу лечения.

Регистр позволит специалистам не стоять на месте, а постоянно развиваться, улучшать качество лечения на протяжении длительного периода времени, даже тогда, когда схлынет волна ажиотажного интереса к стволовым клеткам и начнется рутинная работа.

Именно такой подход, принятый во всех передовых странах мира, позволит российским кардиологам оставаться на самых передовых позициях и наиболее эффективно внедрять свои достижения в практику.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ	–	адренотропный гормон
БСА	–	бычий сывороточный альбумин
ГА	–	гидроксилапатит
ГИМ	–	гемопозиндуцирующее микроокружение
ГРПАП	–	гамма-рецептор-2 пероксисомного активатора пролиферации
ГСК	–	гемопозитические стволовые клетки
КОЕф	–	колониеобразующие единицы фибробластов
МБК	–	морфогенетические белки кости
МПСК	–	мультипотентные стволовые клетки
ИЛ	–	интерлейкины
ИМ	–	инфаркт миокарда
ИБС	–	ишемическая болезнь сердца
ИАП-1	–	ингибитор активатора плазминогена первого типа
ИПФР	–	инсулиноподобный фактор роста
ИФ	–	интерферон
КМЦ	–	кардиомиоциты
КПМА	–	каскадоподобный механизм адаптации
КСФ	–	колониестимулирующий фактор (Г – гранулоцитарный, ГМ – гранулоцито-макрофаальный КСФ)
КФ	–	кальциофосфат
ЛЖ	–	левый желудочек
ЛИФ	–	лейкемиеингибирующий фактор
ЛПН	–	лактопротеины низкой плотности
ЛЦМ	–	легкая цепь миозина
МАПК	–	митоген-активируемая протеинкиназа
МО	–	мезенхимальные островки
МУФ	–	миогенез-усиливающий фактор
ОИМ	–	острый инфаркт миокарда
ОКС	–	острый коронарный спазм
ОСФТ	–	основной связывающий фактор транскрипции
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
ПФЖ	–	порог фибрилляции желудочков
РР	–	рианодиновый рецептор
РЭС	–	ретикулоэндотелиальная система

СГМК	–	сосудистые гладкомышечные клетки
СВК	–	стромально-васкулярные клетки
ССЗ	–	сердечно-сосудистые заболевания
СИМ	–	стромальное индуцирующее микроокружение
СМ	–	стромальное микроокружение
СН	–	сердечная недостаточность
СЭФР	–	сосудистый эндотелиальный фактор роста
ТАП	–	тканевой активатор плазминогена
ТЦМ	–	тяжелая цепь миозина
ТФР	–	трансформирующий фактор роста
ФНО	–	фактор некроза опухоли
ФРВТ	–	фактор роста, высвобождаемый тромбоцитами
ФРФ	–	фактор роста фибробластов
ФСК	–	фактор стволовых клеток
ФфВ	–	фактор фон Виллебранда
ЦК	–	центральная клетка
ШФ	–	щелочная фосфатаза
ЭК	–	эмбриональные клетки
ЭПФР	–	эпителиальный фактор роста
ЭСК	–	эмбриональные стволовые клетки
ЭТ	–	эмбрионидные тела, тельца
ЭТС	–	эмбриональная телячья сыворотка
ЭЦМ	–	экстрацеллюлярный матрикс
ЭСМ	–	электрическая стабильность миокарда
ЯТФ	–	ядерный Т-фактор
Сbfa-1	–	основной связывающий фактор A1
PPAR- γ 2	–	пероксисомный активизированный рецептор пролифератор γ 2
С/ЕВР- α /В	–	фактор, связывающий протеин α /В
NFAT-р	–	ядерный Т-фактор активации
MEF-2С	–	миоцит-специфический связывающий фактор-2С
ВТЕВ-2	–	основной транскрипторный регуляторный элемент, связывающий белок

СПИСОК ОСНОВНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Андреев А.П.** Популярная кардиология. – 2000. – С. 65.
2. **Анохин П.К.** Очерки по физиологии функциональных систем. – М.: Медицина, 1975. – 448 с.
3. **Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т.** Медикаментозные пути улучшения прогноза больных хронической сердечной недостаточностью. – М.: Инсайт, 1997. – 77 с.
4. **Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю., Савченко В.Г.** Мобилизация стволовых клеток костного мозга в лечении больных с сердечной недостаточностью // Кардиология. – 2003. – № 3. – С. 12–16.
5. **Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г.** Сердечно-сосудистая хирургия – 2001. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. – М.: Изд-во НЦССХ им. Бакулева, 2002. – 83 с.
6. **Болл С.Дж., Кемпбелл Р.В.Ф., Френсис Г.С.** Международное руководство по сердечной недостаточности. – М., 1995. – 90 с.
7. **Бродский В.Я.** Полиплоидия в миокарде: Компенсаторный резерв в сердце // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 1995. – Т. 199. – № 5. – С. 454–459.
8. **Быков В.Л.** Частная гистология: краткий обзорный курс. – 2-е изд. – СПб.: СОТИС, 1997. – 300 с.
9. **Быков В.Л.** Цитология и общая гистология: функциональная морфология клеток и тканей человека. – СПб.: СОТИС, 1998. – 520 с.
10. **Вермель А.Е.** Стволовые клетки: общая характеристика и перспективы применения в клинической практике // Клиническая медицина. – 2004. – № 1. – С. 5–11.
11. **Волкова О.В., Пекарский М.И.** Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека. – М.: Медицина, 1976. – 415 с.
12. **Габбасов З.А., Соболева Э.Л.** Стромальные стволовые клетки взрослого организма – резерв восстановительной хирургии // Клиническая геронтология. – 2003. – Т. 9. – № 5. – С. 20–24.
13. **Гансбургский А.Н., Павлов А.В.** Эмбриональное развитие и гистофизиология органов детей и подростков. – Ярославль: Изд. ЯГМА, 1999. – 40 с.
14. **Герасимова Л.П., Манакова Т.Е. и др.** Функциональная характеристика кроветвор-

- ных и стромальных клеток при различных формах миелодиспластического синдрома // Бюл. exper. биол. – 1999. – Т. 127. – № 1. – С. 14–18.
15. **Гоги Е.Е.** Гипертоническая болезнь. – М., 1997. – 400 с.
16. **Голобобов В.Г., Деев Р.В.** Стволовые стромальные клетки и остеобластический клеточный дифферон // Морфология. – 2003. – № 1. – С. 9–19.
17. **Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П.** Методы культуры ткани в гематологии. – Томск: ТГУ. – 1992. – 264 с.
18. **Гороховский Б.И.** Аневризмы и разрывы сердца. – М.: МИА, 2001. – 1075 с.
19. **Гуриев С.Б.** Экстрацеллюлярные компоненты сердечной мышцы в процессе повреждения и репарации при экспериментальном инфаркте миокарда: Автореф. дисс. – 1989. – 16 с.
20. **Гюнтер В.Э., Дамбаев Г.Ц., Сыссотин П.Г. и др.** Медицинские материалы и имплантаты с памятью формы. – Томск: ТГУ, 1998. – 487 с.
21. **Гюнтер В.Э., Итин В.И., Монасевич Ю.И. и др.** Эффекты памяти формы и их применение в медицине. – Новосибирск: Наука, 1992. – 742 с.
22. **Добронраво Б.** Сердечная недостаточность. – М.: Диля Пабблишинг, 2002. – 192 с.
23. **Дризе Р.И., Чертков И.Л.** Влияние введения мышам цитокинов (Г-КСФ и ФСК) на клетки-предшественники кроветворной стромы // Бюл. exper. биол. – 1998. – Т. 125. – № 2. – С. 204–206.
24. **Дризе Р.И., Тодрия Т.В., Чертков И.Л.** Клональная сукцессия в кроветворной системе: число примитивных стволовых кроветворных клеток и длительность жизни клонов // Бюл. exper. биол. – 1999. – Т. 127. – № 4. – С. 3–24.
25. **Дыбан А.П.** Стволовые клетки в экспериментальной и клинической медицине // Медицинский академический журнал. – 2002. – Т. 2. – № 3. – С. 3–24.
26. **Дыгай А.М., Шахов В.П.** Роль межклеточных взаимодействий в регуляции гемопоэза. – Томск: ТГУ, 1989. – 224 с.
27. **Елисеев В.В., Сапронов Н.С.** Аденозин и функция миокарда. – М.: Лань, 2000. – 159 с.
28. **Жданов В.С., Вихерт А.М., Стернби Н.Г.** Эволюция и патология атеросклероза у человека. – М.: Триада-Х, 2002. – 144 с.
29. **Заварзин А.А.** Избранные труды. Т.4. Очерки по эволюционной гистологии. – М.–Л.: Изд-во АН СССР. – 718 с.
30. **Заварзин А.А. мл.** Основы сравнительной гистологии. – Л.: ЛГУ, 1985. – 400 с.
31. **Зайчик А.Ш.** Основы Общей патологии. Ч. 2. Основы патохимии. – Спб.: Элсби, 2000. – 688 с.
32. **Захаров Ю.М., Рассохин А.Г.** Эритробластический островок. – М.: Медицина, 2002. – 280 с.
33. **Капелько В.И.** Внеклеточный матрикс миокарда и его изменения при заболеваниях сердца // Кардиология. – 2000. – Т. 40. – С. 78–92.
34. **Карлов А.В., Шахов В.П.** Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики. – Томск: STT, 2001. – 480 с.
35. **Корж Д.А.** Гетеротопические травматологические оссификации. – М.: Медицина, 1963. – С. 111.

36. **Лишманов Ю.Б., Нарыжная Н.В., Маслов Л.Н.** Опиоидергическое звено морфо-функциональных изменений миокарда при стрессе и адаптации. – Томск: Красное Знамя, 2003. – 224 с.
37. **Мазур Н.А.** Внезапная смерть больных ишемической болезнью сердца. – М.: Медицина, 1985. – 192 с.
38. **Матусова А.П., Боровков Н.Н.** Практическая кардиология. – М.: Феникс, 1999. – 150 с.
39. **Маянский Д.Н.** Клетки Купфера и система мононуклеарных фагоцитов. – Новосибирск: Наука, 1981. – 172 с.
40. **Маянский А.Н., Маянский Д.Н.** Очерки о нейтрофиле и макрофаге. – Новосибирск: Наука, 1989. – 344 с.
41. **Меерсон Ф.З.** Адаптация, деадаптация и сердечная недостаточность. – М.: Медицина, 1977. – 344 с.
42. **Меерсон Ф.З.** Защита сердца от стресса и ишемии. – М.: Медицина, 1991. – 256 с.
43. **Меерсон Ф.З.** Первичное стрессорное повреждение миокарда и аритмическая болезнь сердца // Кардиология. – 1993. – № 4. – С. 50–59.
44. **Меерзон Т.И.** Вопросы патогенеза тканевых обезыствлений // Клин. мед. – 1968. – № 10. – С. 26–28.
45. **Миронов С.П., Федотов Т.М., Берченко Г.Н.** Гетеротопная оксификация как осложнение разрыва мышц у спортсменов // Вестник травматол. и ортопед. – 1997. – № 2. – С. 43–47.
46. **Непомнящих Л.М.** Морфогенез важнейших общепатологических процессов в сердце. – Новосибирск: Наука, 1991. – 352.
47. **Непомнящих Л.М.** Патологическая анатомия и ультраструктура сердца: Комплексное морфологическое исследование общепатологического процесса в миокарде. – Новосибирск: Наука, 1981. – 323 с.
48. **Непомнящих Л.М.** Морфология адаптивных реакций миокарда при экстремальных экологических воздействиях // Вестн. РАМН. – 1997. – № 3. – С. 43–53.
48. **Непомнящих Л.М.** Основные формы острых повреждений кардиомиоцитов по данным поляризационной микроскопии миофибрилл // Бюлл. exper. биол. – 1996. – Т. 121. – № 1. – С. 4–13.
50. **Непомнящих Л.М.** Патологическая анатомия и ультраструктура сердца. – Новосибирск: Наука, 1981. – 324 с.
51. **Непомнящих Л.М., Лушников Е.Л., Семенов Д.Е.** Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: Морфологические основы и молекулярные механизмы. – М.: Изд-во РАМН, 2003. – 255 с.
52. **Новиков В.П.** Инфаркт миокарда. Патогенез, фармакотерапия, профилактика. – М.: Лань, 2000. – 336 с.
53. **Новицкий В.В., Козлов Ю.А., Лаврова В.С., Шевцова Н.М.** Гемопозз, гормоны, эволюция. – Новосибирск: Наука, 1997. – 432 с.
54. **Полежаев Л.В.** Состояние проблемы регенерации мышцы сердца // Усп. совр. биол. – 1995. – Т. 115. – С. 198–212.

55. **Полежаев Л.В.** Факторы регенерации нерегенерирующих органов и тканей // Вестн РАН. – 2000. – Т. 70. – С. 597–603.
56. **Полежаев Л.В., Ахабадзе Л.В., Музлаева Н.А., Явич М.П.** Стимуляция регенерации мышцы сердца. – М.: Наука, 1965. – 396 с.
57. **Попов С.В., Кострикин А.А., Шахов В.П.** Перепрограммирование мультипотентных стволовых клеток в кардиомиоциты // Вестник аритмологии. – 2004. – № 35, приложение А. – С. 582.
58. **Потапов И.В., Крашенинников М.Е., Онищенко Н.А.** Клеточная кардиомиопластика // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2001. – № 2. – С. 1–17.
59. **Репин В.С.** Трансплантация клеток: новые реальности в медицине // БЭБиМ. – 1998. – Т. 126 (приложение 1). – С. 14–28.
60. **Репин В.С., Сухих Г.Т.** Медицинская клеточная биология. – М., РАМН: БЭБиМ, 1998. – 200 с.
61. **Рэфф Р., Кофмен Т.** Эмбрионы, гены и эволюция. – М.: Мир, 1986. – С. 404.
62. **Румянцев А.Г., Масчан А.А.** Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. – М.: МИА, 2003. – 912 с.
63. **Румянцев П.П.** Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. – Л.: Наука, 1982. – 288 с.
64. **Саркисов Д.С.** Очерки по структурным основам гомеостаза. – М.: Медицина, 1977. – 352 с.
65. **Саркисов Д.С.** Регенерация и ее клиническое значение. – М.: Медицина, 1979. – 284 с.
66. **Селье Г.** Очерки об адаптационном синдроме. – М.: Медицина, 1961. – 154 с.
67. **Селье Г.** Концепция стресса как мы ее представляем в 1976 году. – Киев: Наукова Думка, 1977. – С. 27–51.
68. **Селье Г.** Стресс без дистресса. – М.: Прогресс, 1979. – 124 с.
69. **Сороки С.** Инфаркт миокарда. – СПб.: Нева, 2003. – 128 с.
70. **Судаков К.В.** Новые аспекты классической концепции стресса // Бюлл. экспер. биол. – 1997. – Т. 123. – № 2. – С. 124–128.
71. **Сухих Г.Т.** Трансплантация фетальных тканей и клеток: настоящее и будущее // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – Т. 126 (приложение 1). – С. 3–13.
72. **Сухих Г.Т., Богданова И.М., Малайцев В.В. и др.** Иммунологические аспекты трансплантации фетальных клеток // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1998. – Т. 126 (приложение 1). – С. 178–181.
73. **Фриденштейн А.Я., Лалыкина К.С.** Индукция костной ткани и остеогенные клетки-предшественники. – М.: Медицина, 1973. – 220 с.
74. **Хадорн Э., Венер З.** Общая зоология. – М.: Мир, 1989. – 528 с.
75. **Хоффбауэр Г.** Инфаркт миокарда у женщин. – М.: Инфа-М, 2002. – 208 с.
76. **Чазов Е.И.** Эмоциональные стрессы и сердечно-сосудистые заболевания // Вестн. АМН СССР. – 1975. – № 8. – С. 3–8.

77. **Чазов Е.И., Смирнов В.Н., Алиев М.К. и др.** Молекулярные механизмы сердечной недостаточности при ишемии миокарда // Кардиология. – 1976. – № 4. – С. 5–13.
78. **Чертков И.Л., Гуревич О.А.** Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. – М., 1984.
79. **Шахов В.П.** Дрейфующий медленноразвивающийся каскадоподобный механизм адаптации при действии на организм экстремальных факторов // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. – 1996. – Т. 121. – № 5. – С. 571–574.
80. **Шахов В.П.** К вопросу о роли гемопоэтических островков в развитии феномена стимуляции костномозгового кроветворения при стрессе // Гематол. и трансфузиол. – 1988. – Т. 33. – № 5. – С. 19–21.
81. **Шахов В.П.** Концептуальная модель каскадоподобного механизма адаптации / Актуальные вопросы кардиохирургии. – Томск, 1997. – С. 116–117.
82. **Шахов В.П., Байков А.Н.** Стволовые клетки. Реальность и перспективы // Современные аспекты биологии и медицины. – Томск: СГУ, 2002. – С. 110–112.
83. **Шахов В.П., Гумилевский Б.Ю., Курилов И.Н. и др.** Феномен трехклеточной кооперации макрофаг-Т-лимфоцит – кроветворная клетка в гемопоэтическом островке костного мозга при стрессе // Иммунология. – 1999. – № 3. – С. 25–27.
84. **Шахов В.П., Карлов А.В., Хлусов И.А.** Мезенхимальные стволовые клетки и остеогенез // Гений ортопедии. – 2003. – №2. – С. 116–120.
85. **Шахов В.П., Карлов А.В., Шахова С.С., Курилов И.Н.** Репликация гемопоэтических островков в культуре ткани *in vivo* // Цитология. – 1999. – Т. 41. – № 3, 4. – С. 324–325.
86. **Шахов В.П., Кокарев О.В., Попов С.В. и др.** Феномен формирования мезенхимальных островков из клеток костного мозга мышей в системе *in vitro* // Бюллетень сибирской медицины. – 2004. – № 1. – С. 60–62.
87. **Шахов В.П., Попов С.В., Афанасьев С.А.** Мезенхимальные островки как структурно-функциональные единицы мезенхимопоэза // Вестник аритмологии. – 2004. – № 35, приложение А. – С. 580.
88. **Шахов В.П., Попов С.В., Афанасьев С.А., Кострикин А.А.** О существовании структурно-анатомических единиц мезенхимальных стволовых клеток в костном мозге // Аллергология и иммунология. – 2004. – Т. 5. – № 1. – С. 39 (абстр. 31).
89. **Шахов В.П., Попов С.В., Кокарев О.В., Афанасьев С.А.** Перспективы использования мезенхимальных клеток в кардиомиопластике // Вестник аритмологии. – 2004. – № 35, приложение А. – С. 579.
90. **Шахов В.П., Попов С.В., Кокарев О.В., Афанасьев С.А.** Феномен образования мезенхимальных островков *in vitro* // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. – 2004. – Т. 137. – № 6. – С. 706–709.
91. **Шахов В.П., Шахова С.С.** Быстро- и медленноразвивающийся каскадоподобный механизм адаптации при действии на организм экстремальных факторов // 1-й Российский конгресс патофизиологов. – М., 1996. – С. 234.
92. **Шевченко Ю.Л.** Экспериментальное обоснование возможности имплантации эмбриональных кардиомиоцитов в комплексной терапии миокардиальной слабости // Физиология человека. – 1999. – Т. 25 (4). – С. 109–117.

93. **Щелкунов С.И.** Основные принципы клеточной дифференцировки. – М.: Медицина, 1977. – 256 с.
94. **Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е. и др.** Дифференцировка стромальных стволовых клеток костного мозга в кардиомиоцитоподобные клетки у различных видов млекопитающих // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2003. – Т. 135. – N 4. – С. 461–465.
95. **Abrahamsson S.O.** Similar effects of recombinant human insulin-like growth factor-I and II on cellular activities in flexor tendons of young rabbits: Experimental studies in vitro // J. Orthop. Res. – 1997. – № 15. – P. 256–262.
96. **Antin P.B., Yatskievych T., Dominguez J.L., Chieffi P.** Regulation of avian precardiac mesoderm development by insulin and insulin-like growth factors // J. Cell. Physiol. – 1996. – № 168. – P. 42–49.
97. **Azpiazu N., Frasch M.** Tinman and bagpipe: two homeo box genes that determine cell fates in the dorsal mesoderm of *Drosophila* // Genes Dev. – 1993. – № 7. – P. 1325–1340.
98. **Bach S.P., Renahan A.G., Potten C.S.** Stem cells: The intestinal stem cell as a paradigm // Carcinogenesis. – 2000. – № 21. – P. 469–476.
99. **Baroffio A., Bochaton-Piallat M.L., Gabbiani G., Bader C.R.** Heterogeneity in the progeny of single human muscle satellite cells // Differentiation. – 1995. – № 59. – P. 259–268.
100. **Beauchamp J.R., Morgan J.E., Pagel C.N., Partridge T.A.** Dynamics of myoblast transplantation reveal a discrete minority of precursors with stem cell-like properties as the myogenic source // J. Cell. Biol. – 1999. – № 144. – P. 1113–1122.
101. **Becker H., Graham M.F., Cohen I.K., Diegelmann R.F.** Intrinsic tendon cell proliferation in tissue culture // J. Hand. Surg. (Am.). – 1981. – № 6. – P. 616–619.
102. **Bessis M.C.** Cytological aspects of hemoglobin production // The Harvey Lectures, ser. 58. – N.Y.–London: Academic Press, 1963. – 21 p.
103. **Berardi A.C., Wang A., Levine J.D. et al.** Functional isolation and characterization of human hematopoietic stem cells // Science. – 1995. – № 267. – P. 104–108.
104. **Beresford J.N., Bennett J.H., Devlin C. et al.** Evidence for an inverse relationship between the differentiation of adipocytic and osteogenic cells in rat marrow stromal cell cultures // J. Cell. Sci. – 1992. – № 102. – P. 341–351.
105. **Bernard-Beaubois K., Hecquet C., Houcine O. et al.** Culture and characterization of juvenile rabbit tenocytes // Cell. Biol. Toxicol. – 1997. – № 13. – P. 103–113.
106. **Bianco P., Riminucci M., Gronthos S. et al.** Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications // STEM CELLS. – 2001. – № 19. – C. 180–192.
107. **Bianco P., Riminucci M., Kuznetsov S. et al.** Multipotential cells in the bone marrow stroma: regulation in the context of organ physiology // Crit. Rev. Eukaryot. Gene. Expr. – 1999. – № 9. – P. 159–173.
108. **Bianco P., Robey P.G.** Marrow stromal stem cells // J. Clin. Invest. – 2000. – № 105. – P. 1663–1668.
109. **Blazsek I., Delmas Marsalet B., Legras S. et al.** Large-scale recovery and characterization of stromal cell-associated primitive haemopoietic progenitor cells from filter-retained human bone marrow // Bone Marrow Transplant. – 1999. – № 23. – P. 647–657.

110. **Bodmer R.** The gene tinman is required for specification of the heart and visceral muscles in *Drosophila* // *Development*. – 1993. – № 118. – P. 719–729.
111. **Bordignon C., Carlo-Stella C., Colombo M.P. et al.** Cell therapy: Achievements and perspectives // *Haematologica*. – 1999. – № 84. – P. 1110–1149.
112. **Bruder S.P., Jaiswal N., Haynesworth S.E.** Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation // *J. Cell. Biochem*. – 1997. – № 64. – C. 278–294.
113. **Bukowiecki L.J., Geloan A., Collet A.J.** Proliferation and differentiation of brown adipocytes from interstitial cells during cold acclimation // *Am. J. Physiol*. – 1986. – № 250. – P. 880–887.
114. **Cantley L.C.** The phosphoinositide 3-kinase pathway // *Science*. – 2002. – № 296. – P. 1655–1657.
115. **Caplan A.I.** The mesengenic process // *Clin. Plast. Surg*. – 1994. – № 21. – P. 429–435.
116. **Caplan A.I., Heckman J.D., Lennon D.P. et al.** Osteochondral progenitor cells in acute and chronic canine nonunions / Boyan B.D. // *J. Orthop. Res*. – 1999. – № 17. – P. 246–255.
117. **Carnes D.L., Maeder C.L., Graves D.T.** Cells with osteoblastic phenotypes can be explanted from human gingiva and periodontal ligament // *J. Periodontol*. – 1997. – № 68. – P. 701–707.
118. **Castro-Malaspina H., Gay R.E., Resnick G. et al.** Characterization of human bone marrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny // *Blood*. – 1980. – № 56. – P. 289–301.
119. **Cheng L., Qasba P., Vanguri P., Thiede M.A.** Human mesenchymal stem cells support megakaryocyte and pro-platelet formation from CD34(+) hematopoietic progenitor cells // *J. Cell. Physiol*. – 2000. – № 184. – P. 58–69.
120. **Conget P., Minguell J.J.** Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells // *J. Cell. Physiol*. – 1999. – № 181. – P. 67–73.
121. **Crocker P., Gordon S.** Isolation and characterization of resident stromal macrophages and hematopoietic cells clusters from mouse bone marrow // *J. Exp. Med*. – 1985. – V. 162. – N. 9. – P. 993–1014.
122. **Dennis J.E., Caplan A.I.** Analysis of the developmental potential of conditionally immortal marrow-derived mesenchymal progenitor cells isolated from the H-2Kb-tsA58 transgenic mouse // *Connect. Tissue. Res*. – 1996. – № 35. – P. 93–99.
123. **Dennis J., Charbord P.** Origin and Differentiation of Human and Murine Stroma Stem // *Cells*. – 2002. – № 20. – P. 205–214.
124. **Diana L., Clarke B., Clas B. et al.** Generalized Potential of Adult Neural Stem Cells // *Science*. – 1999. – Vol. 288. – P. 5471–5476.
125. **Digirolamo C.M., Stokes D., Colter D. et al.** Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: A simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate // *Br. J. Haematol*. – 1999. – № 107. – P. 275–281.
126. **Erices A., Conget P., Minguell J.J.** Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood // *Br. J. Haematol*. – 2000. – № 109. – P. 235–242.
127. **Fernandez M., Simon V., Herrera G. et al.** Detection of stromal cells in peripheral blood

- progenitor cell collections from breast cancer patients // *Bone Marrow Transplant.* – 1997. – № 20. – P. 265–271.
128. **Ferrari G., Cusella-De Angelis G. et al.** Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors // *Science.* – 1998. – № 279. – P. 1528–1530.
129. **Friedenstein A.J., Latzinik N.W., Grosheva A.G. et al.** Marrow microenvironment transfer by heterotopic transplantation of freshly isolated and cultured cells in porous sponges // *Exp. Hematol.* – 1982. – V. 10. – P. 217–227.
130. **Fujimoto E., Ochi M., Kato Y. et al.** Beneficial effect of basic fibroblast growth factor on the repair of full-thickness defects in rabbit articular cartilage // *Arch. Orthop. Trauma. Surg.* – 1999. – № 119. – P. 139–145.
131. **Fukushima N., Ohkawa H.** Hematopoietic stem cells and microenvironment: the proliferation and differentiation of stromal cells // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 1995. – № 20. – P. 255–270.
132. **Galmiche M.C., Koteliansky V.E., Briere J. et al.** Stromal cells from human long-term marrow cultures are mesenchymal cells that differentiate following a vascular smooth muscle differentiation pathway // *Blood.* – 1993. – V. 82. – P. 66–76.
133. **Galotto M., Berisso G., Delfino L. et al.** Stromal damage as consequence of high-dose chemo/radiotherapy in bone marrow transplant recipients // *Exp. Hematol.* – 1999. – № 27. – P. 1460–1466.
134. **Ghilzon R., McCulloch C.A., Zohar R.** Stromal mesenchymal progenitor cells // *Leuk. Lymphoma.* – 1999. – № 32. – P. 211–212.
135. **Gregoire F., Smas C., Sook H.** Understanding adipocyte differentiation // *Phys. Rev.* – 1998. – № 78. – P. 783–823.
136. **Grigoriadis A.E., Heersche J.N., Aubin J.E.** Continuously growing bipotential and monopotential myogenic, adipogenic, and chondrogenic subclones isolated from the multipotential RCJ 3.1 clonal cell line // *Dev. Biol.* – 1990. – № 142. – P. 313–318.
137. **Grigoriadis A.E., Heersche J.N., Aubin J.E.** Differentiation of muscle, fat, cartilage, and bone from progenitor cells present in a bone-derived clonal cell population: effect of dexamethasone // *J. Cell. Biol.* – 1988. – № 106. – P. 2139–2151.
138. **Gronthos S., Zannettino A.C., Graves S.E. et al.** Differential cell surface expression of the STRO-1 and alkaline phosphatase antigens on discrete developmental stages in primary cultures of human bone cells // *J. Bone. Miner. Res.* – 1999. – № 14. – P. 47–56.
139. **Gross J.G., Morgan J.E.** Muscle precursor cells injected into irradiated mdx mouse muscle persist after serial injury // *Muscle. Nerve.* – 1999. – № 22. – P. 174–185.
140. **Hanff G., Abrahamsson S.O.** Matrix synthesis and cell proliferation in repaired flexor tendons within e-PTFE reconstructed flexor tendon sheaths // *J. Hand. Surg.* – 1996. – № 21. – P. 642–646.
141. **Haynesworth S.E., Baber M.A., Caplan A.I.** Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies // *Bone.* – 1992. – № 13. – P. 69–80.
142. **Hellstrom M., Kalen M., Lindahl P. et al.** Role of PDGF-B and PDGFR-beta in recruitment of vascular smooth muscle cells and pericytes during embryonic blood vessel formation in the mouse // *Development.* – 1999. – № 126. – P. 3047–3055.
143. **Hicok K.C., Thomas T., Gori F. et al.** Development and characterization of conditionally

- immortalized osteoblast precursor cell lines from human bone marrow stroma // *J. Bone Miner. Res.* – 1998. – № 13. – P. 205–217.
144. **Iwata S., Sato Y., Asada M. et al.** Anti-tumor activity of antizyme which targets the ornithine decarboxylase (ODC) required for cell growth and transformation // *Oncogene.* – 1999. – № 18. – P. 165–172.
145. **Juan G., Darzynkiewicz Z.** Cell cycle analysis by flow and laser scanning cytometry // *Cell Biol.* – 1998. – № 1. – P. 261–274.
146. **Kagawachi N., Toriyama M., Kazuhiro T. et al.** De novo adipogenesis in mice at site of injection of basement membrane and basic fibroblasts growth factor // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – № 95. – P. 1062–1066.
147. **Kang H.J., Kang E.S.** Ideal concentration of growth factors in rabbit's flexor tendon culture // *Yonsei. Med. J.* – 1999. – № 40. – P. 26–29.
148. **Klein G.** The extracellular matrix of the hematopoietic microenvironment // *Experientia.* – 1995. – № 51. – P. 914–926.
149. **Koc O.N., Peters C., Aubourg P. et al.** Bone marrow-derived mesenchymal stem cells remain host-derived despite successful hematopoietic engraftment after allogeneic transplantation in patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases // *Exp. Hematol.* – 1999. – № 27. – P. 1675–1681.
150. **Komaki M., Katagiri T., Suda T.** Bone morphogenetic protein-2 does not alter the differentiation pathway of committed progenitors of osteoblasts and chondroblasts // *Cell Tissue Res.* – 1996. – № 284. – P. 9–17.
151. **Kopen G.C., Prockop D.J., Phinney D.G.** Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – № 96. – P. 10711–10716.
152. **Lazarus H.M., Haynesworth S.E., Gerson S.L., Caplan A.I.** Human bone marrow-derived mesenchymal (stromal) progenitor cells (MPCs) cannot be recovered from peripheral blood progenitor cell collections // *J. Hematother.* – 1997. – № 6. – P. 447–455.
153. **LeGeros R.Z.** Apatite in biological system // *Prog. Cryst. Growth. Character.* – 1981. – V. 4. – P. 1–45.
154. **Liu F., Malaval L., Gupta A.K., Aubin J.E.** Simultaneous detection of multiple bone-related mRNAs and protein expression during osteoblast differentiation: Polymerase chain reaction and immunocytochemical studies at the single cell level // *Dev. Biol.* – 1994. – № 166. – P. 220–234.
155. **Makino S., Fukuda K., Mioshi S. et al.** Cardiomyocytes can be regeneration from marrow stromal cells in vitro // *J. Clin. Invest.* – 1999. – V. 103. – P. 697–705.
156. **Mathe G., Ameil J.L.** Bone marrow transplantation and white cell transfusion // *Sprungfield.* – 1971. – V. 1.
157. **Maximov A.** Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen, II/1 Die Gewebe I // Herausgegeben von W. Mollendorff. – Berlin: Verlag von J.Springer, 1927. – S. 232–549.
158. **Maximov A.** Bindegewebe und blutbildende // Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen / Red. W. Mollendorff. – Berlin, 1927. – Bd. 2. – S. 233–583.
159. **Metsaranta M., Kujala U.M., Pelliniemi L. et al.** Evidence for insufficient chondrocytic differentiation during repair of full-thickness defects of articular cartilage // *Matrix Biol.* – 1996. – № 15. – P. 39–47.

160. **Minguell J.J.** Is hyaluronic acid the "organizer" of the extracellular matrix in marrow stroma? // *Exp. Hematol.* – 1993. – № 21. – P. 7–8.
161. **Morayma R., Troy L., Lenvik T. et al.** Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells // *Blood.* – 2001. – № 9. – P. 2615–2625.
162. **Nakajima H., Goto T., Horikawa O. et al.** Characterization of the cells in the repair tissue of full-thickness articular cartilage defects // *Histochem. Cell. Biol.* – 1998. – № 109. – P. 331–338.
163. **Nuttall M.E., Patton A.J., Olivera D.L. et al.** Human trabecular bone cells are able to express both osteoblastic and adipocytic phenotype: implications for osteopenic disorders // *J. Bone. Miner. Res.* – 1998. – № 13. – P. 371–382.
164. **Ojeda-Urbe M., Brunot A., Lenat A., Legros M.** Failure to detect spindle-shaped fibroblastoid cell progenitors in PBPC collections // *Acta Haematol.* – 1993. – № 90. – P. 139–143.
165. **Park S.R., Oreffo R.O., Triffitt J.T.** Interconversion potential of cloned human marrow adipocytes in vitro // *Bone.* – 1999. – № 45. – P. 549–554.
166. **Phinney D.G., Kopen G., Righter W. et al.** Donor variation in the growth proprieties and osteogenic potential of human marrow stromal cells // *J. Cell. Biochem.* – 1999. – № 75. – P. 424–436.
167. **Piersma A.H., Ploemacher R.E., Brockbank K.G.** Transplantation of bone marrow fibroblastoid stromal cells in mice via the intravenous route // *Br. J. Haematol.* – 1983. – № 54. – P. 285–290.
168. **Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al.** Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // *Science.* – 1999. – № 284. – P. 143–147.
169. **Potten C.S.** Cell cycles in cell hierarchies // *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* – 1986. – № 49. – P. 257–278.
170. **Rajkumar K., Modric T., Murphy L.J.** Impaired adipogenesis in insulin-like growth factor binding protein-1 transgenic mice // *J. Endocrinol.* – 1999. – № 162. – P. 457–465.
171. **Rao S.G., Dravid G.** Expansion of haematopoietic stem cells in vitro: A challenge to stem cell biologists // *Indian J. Exp. Biol.* – 1999. – № 37. – P. 1051–1052.
172. **Reading L., Still K., Bishop N., Scutt A.** Peripheral blood as an alternative source of mesenchymal stem cells // *Bone.* – 2000. – V. 26 (Suppl). – P. 9.
173. **Reese J.S., Koc O.N., Gerson S.L.** Human mesenchymal stem cells provide stromal support for efficient CD34+ transduction // *J. Hematother. Stem. Cell. Res.* – 1999. – № 8. – P. 515–523.
174. **Reyes M., Dudek A., Jahagirdar B. et al.** Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow // *Clin. Invest.* – 2002. – № 109. – P. 337–346.
175. **Reyes M., Verfaillie C.M.** Turning marrow into brain: Generation of glial and neuronal cells from adult bone marrow mesenchymal stem cells // *Blood.* – 1999. – № 94. – C. 377–340.
176. **Schofield R.** The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell // *Blood Cell.* – 1978. – V. 4. – P. 7–25.
177. **Schwartz R.E., Reyes M., Koodie L. et al.** Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells // *J. Clin. Invest.* – 2002. – № 109. – P. 1291–1302.

178. **Shakhov V.P., Karlov A.V.** Formation of calcium phosphate particles rosettes by mononuclears of peripheral blood / 6th World Biomaterials Congress Kamuela. – Hawaii, USA, 2000. – P. 1354.
179. **Shakhov V., Karlov A.V., Shakhova S.S., Kurilov I.N.** Role of neuro-endocrine, T-lymphocitary, reticuloendothelial systems in regulation ectopic bone formation in vivo at fractures // 4th Congress of European Federation of National Associated of Orthopaedic and Traumatology. – Brussels, 1999. – P. 075.
180. **Shahov V.P., Popov S.V., Afanasiev S.A., Kostrikin A.A.** Existence of structural-anatomic units from Mesenchymal stem cell in the bone marrow // International journal on immunorehabilitation. – 2004. – V. 6, N 2. – P. 234 (abstract. 29).
181. **Shahov V., Popov S., Krylatov A., Kostrikin A., Faddev M.** Cellular cardiomyoplasty using stem cells extracted from newborn rat heart // 24th Annual scientific sessions, NASPE. – Washington, USA, 2003. – Abst. 543. – P. 1064.
182. **Shapiro F., Koide S., Glimcher M.J.** Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage // J. Bone Joint. Surg. Am. – 1993. – № 75. – P. 532–553.
183. **Shields L.E., Andrews R.G.** Gestational age changes in circulating CD34⁺ hematopoietic stem/progenitor cells in fetal cord blood // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1998. – № 178. – P. 931–937.
184. **Tamir A., Petrocelli T., Stetler K. et al.** Stem cell factor inhibits erythroid differentiation by modulating the activity of G1-cyclin-dependent kinase complexes: A role for p27 in erythroid differentiation coupled G1 arrest // Cell. Growth. Differ. – 2000. – № 11. – P. 269–277.
185. **Thomas E.D., Storb R., Glif R. et al.** Bone marrow transplantation // N. Eng. J. Med. – 1975. – V. 292. – P. 832–842.
186. **Toma C., Byrne B.J., Golob J. et al.** Efficient myogenic conversion of human mesenchymal stem cells with forced expression of MyoD // Circulation. – 1999. – V. 100 (suppl.1). – P. 1–164.
187. **Toma C., Pittenger M.F., Cahil K.S. et al.** Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in adult murine heart // Circulation. – 2002. – V. 105. – P. 93–98.
188. **Toma C.D., Schaffer J.L., Meazzini M.C. et al.** Developmental restriction of embryonic calvarial cell populations as characterized by their in vitro potential for chondrogenic differentiation // J. Bone. Miner. Res. – 1997. – № 12. – P. 2024–2039.
189. **Tomita S., Li R.K., Jia Z.Q. et al.** Bone marrow cells transplanted in cardiac scar induced cardiomyogenesis and angiogenesis and improved damaged heart function // Circulation. – 1999. – V. 100 (suppl. 1). – P. I-91–I-92.
190. **Urist M.R., Terashima Y., Nakagawa M., Stamos C.** Cartilage tissue differentiation from mesenchymal cells derived from mature muscle in tissue culture // In Vitro. – 1978. – № 14. – P. 697–706.
191. **Yamazaki M., Nakajima F., Ogasawara A. et al.** Spatial and temporal distribution of CD44 and osteopontin in fracture callus // J. Bone. Joint. Surg. Br. – 1999. – № 81. – P. 508–515.
192. **Yoshida N., Yoshida S., Koishi K. et al.** Cell heterogeneity upon myogenic differentiation: down-regulation of MyoD and Myf-5 generates reserve cells // J. Cell. Sci. – 1998. – № 111. – P. 769–779.

193. **Watt F.M.** Epidermal stem cells: Markers, patterning and the control of stem cell fate // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 1998. – № 353. – P. 831–837.
194. **Watt F.M., Hogan B.L.** Out of Eden: Stem cells and their niches // *Science.* – 2000. – № 287. – P. 1427–1430.
195. **Wexler S.A. et al.** Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not // *Br. J. Haematol.* – 2003. – № 121. – P. 368–374.
196. **Weissman I.L.** Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: Barriers and opportunities // *Science.* – 2000. – № 287. – P. 1442–1446.
197. **Wiig M., Abrahamsson S.O., Lundborg G.** Effects of hyaluronan on cell proliferation and collagen synthesis: A study of rabbit flexor tendons in vitro // *J. Hand. Surg.* – 1996. – № 21. – P. 599–604.
198. **Zhang M., Murry C.E.** Death of Grafted Cardiomyocytes Limits Formation of New Myocardium in Injured Hearts // *Circulation.* – 1999. – V. 100 (suppl. I). – P. I–837.
199. **Zohar R., Sodek J., McCulloch C.A.** Characterization of stromal progenitor cells enriched by flow cytometry // *Blood.* – 1997. – № 90. – P. 3471–3481.

SUMMARY

V.P. Shakhov, C.V. Popov

STEM CELLS AND CARDIOMYOPLASTY IN NORM AND PATHOLOGY

The authors of the monograph overview and generalize up-to-date information on morphologic-functional properties of stem cells, which are able to be differentiated into cardiomyocytes and cells of endothelium, participating in development of heart and its reparation after damage. Basing on many-year studies and literature data the authors consider fundamental mechanisms of committing of embryonic and mesenchymal stem cells as well as the issues of their contribution to reparation of heart tissue. The obtained results allow to define both the main criteria for carrying-out effective cell therapy of severe myocardial infarction and main prescriptions, possible complications and contraindications for its application.

The book is useful for patho-physiologist, surgeons, bio-engineers, bio-technologists, students and post-graduates as well as for specialists working in the field of cell and critical technologies and regenerative medicine.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	5
Введение	8
ГЛАВА 1. Развитие сердца. Роль эмбриональных стволовых клеток в кардиомиогенезе	14
1.1. Развитие сердца	14
1.2. Сердечная ткань взрослого человека	20
1.2.1. Рабочие (сократительные) кардиомиоциты	20
1.2.2. Пейсмекерные (синусные, клетки водители ритма, клетки проводящей системы первого типа, Р-клетки) кардиомиоциты	25
1.2.3. Переходные кардиомиоциты (клетки проводящей системы второго типа)	26
1.2.4. Клетки пучка Гиса и его ножек (волокна Пуркинье) (клетки проводящей системы третьего типа)	27
1.3. Дифференцировка плюрипотентных эмбриональных стволовых клеток в кардиомиоциты	27
1.3.1. Манипуляции над ЭСК, приводящие к их кардиогенной дифференцировке	32
1.3.2. Роль цитоскелета и экстрацеллюлярного матрикса в трансформации ЭСК в кардиомиоциты	35
1.3.3. Роль внутриклеточного кальция в регуляции пролиферации и дифференцировки ЭСК в КМЦ	36
1.4. Перспективы развития клеточной терапии ЭСК в медицине и кардиологии	37
ГЛАВА 2. Мезенхимопоэз. Система мезенхимальных стволовых клеток	39
2.1. Мезенхимальные стволовые клетки	39
2.2. Коммитированные МСК костного мозга (МСКк)	45
2.3. Способность костного мозга человека и животных формировать колонии мезенхимальных клеток в системе in vitro	48
2.4. Мезенхимопоэз	56

2.5. МСК из других, не костномозговых источников во взрослом организме	67
2.5.1. МСК из жировой ткани	67
2.5.2. МСК из мышечных клеток	68
2.5.3. МСК из костной ткани	69
2.5.4. МСК из хрящевой ткани и сухожилий	71
2.5.5. МСК сосудистого генеза	71
2.6. Мобилизация МСК	72
2.7. Стромальное микроокружение для МСК	74
2.7.1. Роль Т-лимфоцитов и моноклеарных фагоцитов в регуляции функции стромальных клеток, переносящих ГИМ	76
2.8. Гипотеза о существовании "ниши" для МСК в виде структурно- функционального образования – мезенхимального островка	79
2.9. Феномен слияния (полиплоидии) мезенхимальных стволовых клеток в МО	87
Краткое заключение	97

ГЛАВА 3. Инфаркт миокарда. Кардиомиопластика инфаркта миокарда мультипотентными стволовыми клетками	98
3.1. Инфаркт миокарда	99
3.2. Моделирование острого инфаркта миокарда в эксперименте	104
3.3. Общие принципы кардиомиопластики с использованием клеточных технологий	112
3.3.1. Каскадоподобный механизм адаптации и репарации сердечной ткани при инфаркте миокарда	115
3.3.2. Исследование наличия МСК в сердечной ткани новорожденных животных	123
3.4. Кардиомиопластика острого инфаркта миокарда с помощью МСК, выделенных из костного мозга	125
3.5. Гипотеза об участии МСК в развитии атеросклероза	134
Общее заключение	143
Список сокращений	153
Список основной литературы	155
Summary	167

НАУЧНОЕ ИЗДАНИЕ

Владимир Павлович Шахов
Сергей Валентинович Попов

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И
КАРДИОМИОГЕНЕЗ В НОРМЕ
И ПАТОЛОГИИ

Издательство "СТТ"
(Scientific & Technical Translations)
Россия, 634021, г. Томск, а/я 1747
тел. (3822) 206857, факс (3822) 244688
e-mail: stt@sttonline.com

Формат 84x108 1/32. Усл. п.л. 8,9. Уч.-изд. л. 8,1. Тираж 500 экз.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Заказ № .