

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ В ТЕРАПИИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕРДЦА

А. К. ГУЛЕВСКИЙ, Е. С. АБАКУМОВА, И. И. ЩЕНЯВСКИЙ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

E-mail: danalado@rambler.ru

Получено 18.04.2012

Рассмотрены перспективы применения в эксперименте и в клинике ишемического повреждения миокарда биологически активных веществ: факторов роста, цитомединов, природных антиоксидантов, веществ, содержащихся в экстрактах из ювенильных и фетальных органов и тканей животных. Наряду с хорошо изученными и широко используемыми в клинической практике биопрепаратами животного происхождения, такими как кордиалин, актовегин, эрбисол, несиритид, энергостим, в качестве перспективных средств для терапии сердечно-сосудистых заболеваний рассматриваются экстракты из сердца и низкомолекулярная фракция кордовой крови.

Показано, что использование тканей эмбриофетоплацентарного комплекса повышает репаративную способность миокарда. Основное отличие таких биопрепаратов как биогенных стимуляторов состоит в том, что в их составе есть сбалансированный комплекс биологически активных веществ, в частности различных активаторов регенерации и дифференциации (факторы роста фибробластов, нервов, фактор, стимулирующий рост макрофагальных и эритроидных колоний), а также антипролиферативных цитокинов, предотвращающих клеточную и системную гиперстимуляцию. Кроме того, фетальные клетки и их ассоциаты практически не иммуногены.

Таким образом, если будут определены факторы роста и дифференциации, способные регулировать митотическую активность кардиомиоцитов, станет возможным направленно инициировать процесс дифференцировки стволовых клеток и воздействовать на регенерацию миокарда человека, а следовательно, оптимизировать лечение инфаркта миокарда.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, биологически активные вещества, факторы роста, цитомедины, антиоксиданты, экстракты ткани сердца, кордовой крови, фетальных тканей.

По мнению многих исследователей, клеточная трансплантология является наиболее перспективным методом лечения инфаркта миокарда (ИМ). Несмотря на то, что истинный регенеративный потенциал стволовых клеток (СК) костного мозга (КМ) по-прежнему противоречив, во многих доклинических и клинических исследованиях было показано, что введение СК КМ способно привести к небольшому, но воспроизводимому увеличению сердечной функции [1]. Следовательно, в сердце содержатся клетки, которые могут образовывать новые кардиомиоциты (КМЦ) после ИМ, но в недостаточном количестве, либо они недостаточно активированы, чтобы вызвать достаточную регенерацию.

Альтернативным подходом к пересадке клеток-предшественников в сердце может явиться использование биопрепаратов, содержащих биологически активные веще-

ства (пептидов, ростовых факторов, веществ, содержащихся в экстрактах из фетальных и ювенильных тканей животных, природных антиоксидантов), которые улучшают функции сердца после ИМ.

Использование биологически активных протеинов для лечения инфаркта миокарда

С появлением биотехнологии были открыты протеины, обладающие терапевтическим потенциалом для восстановления функции сердца после ИМ. Показано, что эти протеины улучшают функции сердца при применении их в экспериментальных моделях ИМ. Выделяют четыре класса таких протеинов (рис. 1) [2]:

А) Протеины, индуцирующие ангиогенез. Лечение ИМ с помощью факторов роста кровеносных сосудов (рис. 1, А) — фактора

роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактора роста фибробластов (FGF), как показали доклинические исследования, может индуцировать ангиогенез, т. е. увеличивать кровоснабжение сердца и сохранять его функцию после ИМ [3]. Однако при использовании в эксперименте и клинической практике оба фактора роста вызывали опосредованную оксидом азота гипотензию при введении в коронарные артерии как у свиней [4], так и у человека [4, 5], ограничивая максимально вводимую дозу до 50 нг/кг/мин [5]. Кроме того, недостатками факторов роста кровеносных сосудов, ограничивающими их применение в клинике, являются следующие: 1) формирование aberrантных и вытекающих сосудов [5–7] (образование стабильных, не вытекающих сосудов требует согласованных действий различных ростовых и антиангиогенных факторов, например ангиопоэтинов [8], достижение чего является сложной задачей в процессе разработки лекарственного средства); 2) наличие многих изоформ VEGF, связывающихся с различными рецепторами [6, 9, 10], вызывает вопрос, имеет ли определенная изоформа лучший по сравнению с другими профиль фармакокинетики/фармадинамики для лечения ИМ; 3) стимуляция FGF и VEGF митоза различных типов клеток может обусловить рост опухоли [4, 6]; 4) необходи-

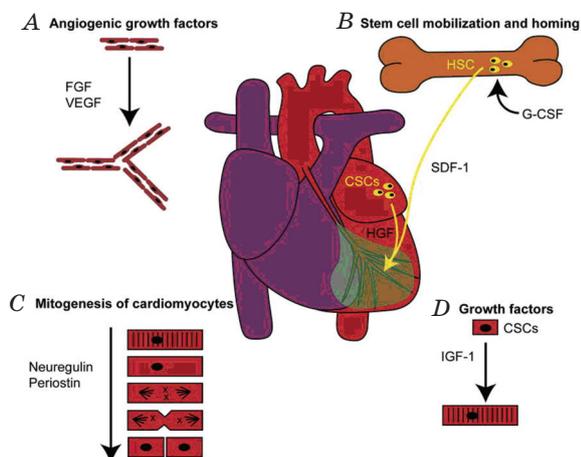


Рис. 1. Регенерация ткани сердца четырьмя различными классами протеинов:

- A** — FGF и VEGF индуцируют ангиогенез;
B — G-CSF мобилизует гемопоэтические СК КМ; SDF-1 индуцирует эндотелиальные прогениторные клетки, HGF — СК сердца;
C — нейрегулин и периостин могут индуцировать деление взрослых кардиомицитов;
D — IGF-1 способствует созреванию и дифференцировке СК сердца

[<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2967710/figure/F1/>]

мость разработки методов адресной доставки FGF и VEGF в ишемизированный миокард с целью ограничения их побочных эффектов [11].

Плацентарный фактор роста (PlGF) также стимулирует ангиогенез и рост коллатералей в ишемизированных тканях [12–14]. Экспрессия PlGF повышается при ИМ [12]. Внутрисердечная доставка PlGF после обширного экспериментального ИМ у крыс приводила к расширению границ зоны ангиогенеза, увеличению фракции выброса, улучшению функции сердца [15]. Кроме того, PlGF может быть маркером сосудистого воспаления. Было показано, что уровень PlGF в плазме повышается в зависимости от тяжести сердечной недостаточности (CH) [13].

Терапевтический потенциал PlGF и участие его рецептора Flt1 в ангиогенезе изучены недостаточно. Показано, что антитела против Flt1 подавляли неоваскуляризацию в опухолях и ишемизированной сетчатке, уменьшали рост атеросклеротических бляшек [14]. Подавление рецептора VEGF-Flk1 не влияло на атеросклероз, что свидетельствует о недостаточной степени ингибирования Flk1-управляемого ангиогенеза для остановки прогрессирования заболевания. Противовоспалительное действие антител против Flt1 обусловлено снижением мобилизации костномозговых клеток-предшественников миелоидного ряда в периферическую кровь и инфильтрацией лейкоцитов, экспрессированных Flt1, в воспаленные ткани, а также нарушением активации миелоидных клеток. Следовательно, PlGF и Flt1 можно использовать для модуляции ангиогенеза и ингибирования воспаления [14].

Для терапевтической коррекции ангиогенеза необходимо введение факторов, которые дополняют друг друга. Известно, что PlGF может модулировать активность VEGF — самого мощного из всех ангиогенных индукторов [12, 16], регулируя меж- и внутримолекулярные взаимодействия между VEGF-тирозин-киназными рецепторами Flt1 и Flk1. Активация Flt1 с помощью PlGF приводит к межмолекулярному трансфосфорилированию Flk1, усиливая тем самым VEGF-управляемый ангиогенез через Flk1. Хотя как VEGF, так и PlGF связывают Flt1, PlGF однозначно стимулирует фосфорилирование специфических тирозиновых остатков Flt1 и экспрессию различных генов-мишеней. Кроме того, гетеродимер VEGF/PlGF активирует внутримолекулярный VEGF-рецептор перекрестно через формирование гетеродимеров Flk1/Flt1. Следует отметить,

что лечение гетеродимером VEGF/PlGF или комбинацией VEGF и PlGF увеличивало ангиогенез при экспериментальном ИМ у мышей, чего не наблюдалось при использовании только VEGF [16].

Снижение повреждения миокарда после экспериментального ИМ было показано после использования эритропоэтина, основного регулятора эритропоэза. Как известно, рецепторы эритропоэтина экспрессируются также в некроветворных тканях, в том числе во взрослом миокарде человека и эндотелиальных сосудистых клетках [17, 18].

Введение одной дозы экзогенного эритропоэтина на моделях ИМ у грызунов, кроликов, собак приводило к уменьшению размера ИМ, снижению посттравматического ремоделирования желудочка и сохранению его насосной функции [19, 20]. Эти эффекты объясняются эритропоэтинопосредованным снижением апоптотической гибели клеток, повышенной мобилизацией циркулирующих костномозговых эндотелиальных клеток-предшественников, увеличением ангиогенеза в преинфарктной ишемической зоне [19–21].

Было проведено проспективное плацебо-контролируемое, рандомизированное, двойное слепое клиническое испытание безопасности, эффективности и механизма действия рекомбинантного человеческого эритропоэтина (rHuEpo) у 44 пациентов с острым ИМ [19]. rHuEpo вводили внутривенно (200 ЕД/кг ежедневно в течение 3 дней), пациенты получали также аспирин и клопидогрель после успешного чрескожного коронарного вмешательства. Было показано увеличение синтеза сигнальных протеинов ангиогенеза в мононуклеарных клетках периферической крови по сравнению с плацебо: rHuEpo значительно повышал экспрессию рецепторов эритропоэтина, эндотелиального сосудистого фактора роста Flt-1 и фосфорилировал фосфатидилинозитол 3-киназу в мононуклеарных клетках периферической крови.

Б) Протеины, увеличивающие набор клеток-предшественников в сердце. Привлечение клеток-предшественников в место повреждения при помощи колониестимулирующих ростовых факторов — гранулоцитарного и гранулоцитмакрофагального [1, 22, 23] рассматривается в качестве возможной альтернативы трансплантации клеток (рис. 1, В).

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) стимулирует пролиферацию гемопоэтических СК. Впервые Orlic

и соавт. [24] применили мобилизацию аутологичных СК посредством подкожного введения мышам G-CSF и фактора стимуляции КМ непосредственно перед созданием очага ишемии миокарда и в течение нескольких дней после экспериментального ИМ. Удалось продемонстрировать превращение этих клеток в миоциты, артериолы и капилляры, что сочеталось с резким ограничением очага ИМ, уменьшением степени дилатации левого желудочка и увеличением фракции выброса (рис. 2, 3). При этом концентрация СК в периферической крови мышей под влиянием ростовых факторов возрастала в 240 раз.

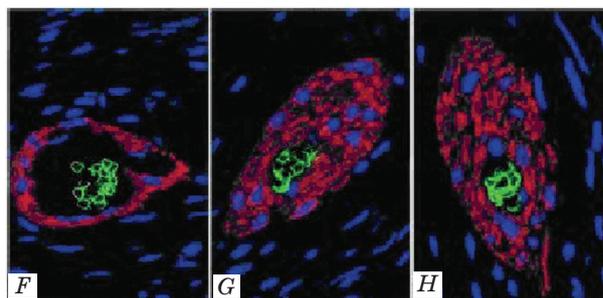


Рис. 2. Регенерация миокарда: артериолы с эритроцитами, мембраны которых мечены TER-119 (зеленая флуоресценция); ядра окрашены йодидом пропидия (синяя флуоресценция); α -актин клеток гладких мышц (красная флуоресценция).
Ув.: F $\times 800$; G и H $\times 1200$
[<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC56963/?tool=pubmed>]

Было выполнено много исследований возможной миграции циркулирующих в крови СК КМ в миокард и их дифференцировки в КМЦ [25–28]. Для увеличения количества циркулирующих в крови СК КМ после экспериментального ИМ у мышей использовали курс инъекций рекомбинантного G-CSF и фактора стволовых клеток. Через 27 сут после ИМ у животных регистрировали снижение на 68% летальности, уменьшение на 48% очага некроза, а также на 26% дилатации полости левого желудочка [29]. Одновременно было отмечено увеличение количества новых КМЦ, артериол и капилляров. Эти данные подтвердили возможность миграции после ИМ аутологичных СК из КМ в зону инфаркта и включение их в постинфарктную регенерацию миокарда.

Проведенные клинические испытания (385 пациентов) показали, что терапия с G-CSF является безопасной и оказывает незначительное влияние на функцию сердца [30]. Было установлено увеличение на

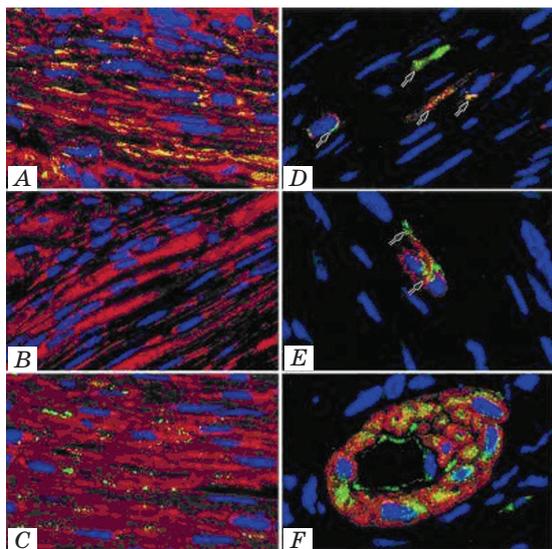


Рис. 3. Маркеры дифференциации сердечных клеток (A–F):

маркировка миоцитов нестиномом (A, желтый), десмином (B, красный) и коннексином 43 (C, зеленый). Красная флуоресценция (A, C) соответствует сердечному миозину; желто-зеленое свечение (D) отражает маркировку фетальной печеночной киназой (FLK-1) эндотелиальных клеток и VE-кадгерина (E); красная флуоресценция (D, E) соответствует фактору VIII в эндотелиальных клетках. Зеленое свечение (F) отражает маркировку цитоплазмы гладкомышечных клеток и эндотелиальной выстилки по FLK-1; красная флуоресценция соответствует α -актину гладких мышц, синяя — мечение ядер пропидия йодидом.

Ув.: A, E $\times 1200$; B, F $\times 800$; C $\times 1400$; D $\times 1800$.
[<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC56963/?tool=pubmed>]

4,75% фракции выброса, если терапия с G-CSF была начата в течение 37 ч после ИМ [30]. Однако потенциал миогенной дифференциации гемопоэтических СК, мобилизованных G-CSF, спорный и, как принято считать, низкий [23]. Кроме того, G-CSF оказывает антиапоптотическое действие на КМЦ после ИМ [31], что подтверждается улучшением фракции выброса при лечении G-CSF в ранние сроки после ИМ, в то время как в конце лечения это не происходит [30].

Влияние G-CSF на гемодинамический и нейрогуморальный статус пациентов, а также безопасность его применения в дополнение к стандартной терапии ИМ изучали в работе [1]. Использовали рекомбинантный человеческий G-CSF (препарат нейпоген, Hoffmann La Roche), который при введении подкожно или внутривенно стимулирует пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических клеток-предшественников. Было показано, что G-CSF индуцирует неангиогенез, что создает благоприятные

условия для улучшения метаболизма ткани, повышения общей сократимости и улучшения гемодинамики в целом. Маркером выхода в кровоток СК был лейкоцитоз, с интенсификацией которого повышались концентрация СК в области повреждения и шансы на успешный неомиоцитогенез и/или неангиогенез.

Помимо возможного неангиогенеза нельзя исключить наличия иных механизмов действия G-CSF: он является цитокином с целым комплексом малоизученных гормональных эффектов на уровне металлопротеаз, молекул адгезии и т. д. Следует отметить, что до сих пор непонятен непосредственный механизм стимуляции выхода СК из КМ под влиянием G-CSF, поскольку СК не имеют рецепторного аппарата, чувствительного к G-CSF [24]. Авторы отмечают, что проведенное исследование не может служить доказательством связи терапии G-CSF с положительными гемодинамическими и клиническими изменениями, однако позволяет надеяться, что такая связь существует.

Фактор роста гепатоцитов (HGF) — митогенный ростовой фактор для гепатоцитов [32], проявляющий также хемотаксическое и антиапоптотическое действие на нескольких типах клеток [33]. Внутривенное введение HGF после ишемии/реперфузии у крыс уменьшало апоптоз КМЦ и размер ИМ, улучшало сердечную функцию [34] с помощью различных механизмов: привлечения клеток-предшественников [35], ангиогенеза [36] и антиапоптоза [34]. Остается неясным, какой из них наиболее важен для оказания кардиопротекторного эффекта HGF.

HGF может также влиять на функции сердца после ИМ с помощью хемотаксического воздействия на сердечные клетки-предшественники. Тирозинкиназный рецептор HGF — с-Мет — представлен в различных популяциях сердечных СК, включая с-Kit+ [37] и Sca-1+ [38]. Было показано что HGF является хемотаксическим для с-Kit+ сердечных СК [35] и увеличивает образование новых КМЦ при введении в инфарцированный миокард вместе с инсулиноподобным фактором роста-1 [35]. Но для клинического применения протеина необходимо четко определить основной механизм его действия и фармакокинетические свойства.

Фактор роста стромальных клеток-1 (SDF-1) — небольшой протеин (68 аминокислот) из семейства хемокинов, обладающий способностью привлекать эндотелиальные клетки-предшественники [39]. Экспрессия SDF-1 увеличивается после ИМ. Ранние

исследования с использованием методов генной терапии [40] показали, что устойчивая локальная концентрация SDF-1 после острого ИМ увеличивает плотность сосуда и улучшает сердечную функцию, но этого недостаточно, чтобы вызвать значительное увеличение регенерации сосудов. Однако SDF-1 быстро инактивируется матриксными металлопротеиназами (ММП), включая ММП-2, активность которой повышается после ИМ, а также DPPIV/CD26. Поэтому был разработан вариант SDF-1, называемый SSDF-1(S4V), с валином для замещения серина в положении 4, который защищает от расщепления ММП-2, и с дополнительным серином на N-конце, защищающим против DPPIV (protease-resistant stromal cell derived factor-1 for stem cell) [41].

Способность SDF-1 действовать как хемотаксический фактор для эндотелиальных клеток-предшественников [39] не только делает его мощным индуктором ангиогенеза, но и может ограничить побочные эффекты при использовании в качестве терапевтического средства. Например, VEGF также индуцирует ангиогенез, но его высокая локальная концентрация может вызвать неконтролируемую пролиферацию эндотелиальных клеток с образованием извилистых и структурно ненормальных сосудов [7, 26].

В) Протеины, индуцирующие митоз КМЦ. Известно, что обновление КМЦ происходит во взрослом сердце [42], но с гораздо меньшей скоростью, чем в неонатальном или во взрослом некоторых позвоночных [43, 44]. Недавние исследования показали, что некоторые протеины, в частности периостин [44] и нейрегулин [45], могут индуцировать повторное включение взрослых КМЦ в клеточный цикл (рис. 1, С).

Периостин — протеин внеклеточного матрикса с молекулярной массой 90 кДа. Он синтезируется фибробластами и играет важную роль в процессе развития сердца [46]. Синтез периостина во взрослом сердце минимален, но повышается после травм, в том числе после ИМ [46], где протеин участвует в ремоделировании внеклеточного матрикса. Дефицит периостина у мышей показал дефектное формирование рубца, что приводило к повышенной частоте желудочковых разрывов в первые дни после ИМ [47]. Kuhn et al. показали, что доставленный в инфарцированный миокард крыс периостин улучшал функцию сердца после ИМ, уменьшал формирование рубца и ремоделирование неинфарцированного миокарда [44]. При этом протеин индуцировал возвращение

в клеточный цикл от 0,6 до 1% КМЦ в пограничной зоне ИМ.

Другим протеином, представляющим интерес в качестве возможного митогена для КМЦ, является нейрегулин. Нейрегулины связаны с эпидермальным фактором роста. Воздействуя на семейство трансмембранных рецепторов ErbB, они стимулируют рост, пролиферацию и дифференцировку разных типов клеток, в том числе и КМЦ. Во взрослом сердце нейрегулин в основном синтезируется в эндотелиальных клетках, стимулирует выживание и гипертрофию КМЦ [48]. Bersell et al. показали, что нейрегулин может вызвать повторное включение КМЦ взрослых мышей в клеточный цикл [45]. Ежедневное внутривенное введение нейрегулина в дозе ~0,1 мг/кг повышало функцию сердца после ИМ с уменьшением размера инфаркта [45]. Авторы показали, что это было связано с распространением существующих КМЦ, а не с уменьшением их апоптоза или увеличением дифференцировки клеток-предшественников.

Теоретически такие протеины, как периостин и нейрегулин, стимулирующие митоз КМЦ, которые сохранились в пограничной зоне, могут частично восстановить повреждение, нанесенное при ИМ. Однако для клинического применения этих протеинов необходимо прежде всего обеспечить их специфичность для КМЦ, что предотвращает образование и рост опухолей в других тканях. Промитотические протеины должны быть специфичны не только для КМЦ в целом, но также для КМЦ в пограничной зоне ИМ, поскольку маловероятно, что бесконтрольная пролиферация КМЦ в удаленной зоне, ведущая к гиперплазии миокарда и, следовательно, к неблагоприятному ремоделированию, принесет пользу функции миокарда в течение ИМ. Кроме того, формирование новых КМЦ путем либо митоза, либо дифференциации СК несет повышенный риск возникновения желудочковых аритмий. Присущая же КМЦ специфичность даст возможность доставлять протеин системно, без привлечения более сложных местных механизмов доставки.

Г) Протеины, индуцирующие рост и дифференциацию стволовых клеток и кардиомиоцитов. Кроме привлечения мультипотентных клеток-предшественников в поврежденный миокард, важной целью терапевтической регенерации сердца являются выживание, рост и дифференциация СК [23] (рис. 1, D). Инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), будучи одним из

ключевых протеинов при развитии сердечной мышцы, индуцирует пролиферацию и выживание сердечных стволовых и прогениторных клеток и улучшает сердечную функцию [49, 50]. Было показано, что добавление IGF-1 к трансплантированным клеткам способствует созреванию СК в увеличенные миоциты по сравнению с трансплантацией только СК [49].

Для устранения трудностей, возникающих при клеточной терапии ИМ (плохая приживляемость, выживаемость и дифференцировка клеток), было разработано биотинилированное самособирающееся пептидное нановолокно для длительной доставки IGF-1 в миокард [50]. Оно представляет собой олигопептиды, состоящие из чередующихся гидрофильных и гидрофобных аминокислот. При воздействии физиологических осмолярности и pH пептиды быстро собираются в маленькие нановолокна (≈ 10 нм), которые могут быть введены в миокард в форме 3D-клеточного микроокружения. Биотинилированный IGF-1 соединяется в комплекс с четырехвалентным стрептавидином и затем связывается с биотинилированными самособирающимися пептидами, что делает возможным связывание IGF-1, но не препятствует самосборке пептидов в нановолокна в миокарде.

Связанный с пептидным нановолокном IGF-1 снижал активацию расщепления каспазой-3 и повышал экспрессию сердечного тропонина I в КМЦ. После введения в миокард крыс нановолокна обеспечивали устойчивую доставку IGF-1 в течение 28 дней. В сочетании с пересаженными КМЦ доставка IGF-1 нановолокнами снижала расщепление каспазой-3 на 28% и повышала площадь поперечного сечения КМЦ на 25% по сравнению с клетками, введенными без нановолокон [50]. Подобная клеточная терапия улучшала систолическую функцию после экспериментального ИМ, подтверждая, что создание локального микроокружения может улучшить эффективность клеточной терапии.

Важную роль в дифференциации эмбриональных СК (ЭСК) в КМЦ играют трансформирующий фактор роста β и фактор фибробластов [51]. Однако для качественной дифференциации ЭСК в КМЦ необходимо достижение устойчивого баланса, т. е. хорошо организованного пространственного и временного распределения различных протеинов, что является основным препятствием для использования их в качестве терапевтического средства для регенерации сердца

[51]. Кроме того, действие этих протеинов на резидентные сердечные СК практически неизвестно, и маловероятно, что местное или системное управление одним из них вызовет значительную дифференциацию СК сердца.

Использование цитомединов в терапии инфаркта миокарда

Описаны исследования выделенных из различных органов пептидных биорегуляторов — цитомединов или «клеточных медиаторов», осуществляющих перенос информации, необходимой для нормального функционирования, развития и взаимодействия клеток. В норме эти соединения регулируют физиологические процессы, связанные с защитными функциями и развитием организма, — репаративные процессы, клеточные иммунные реакции, гемопоэз, гемокоагуляцию и др. [52, 53]. Цитомедины не только обладают специфической активностью, но и оказывают неспецифическое действие. Показано, что в условиях патологии препараты цитомединов избирательно восстанавливают нарушенные функции клеток и органов, из которых они выделены. Это сопровождается усилением экспрессии мембранных рецепторов, изменением внутриклеточного содержания циклических нуклеотидов, повышением интенсивности процессов биосинтеза.

Основное действие цитомединов, выделенных из сердца, заключается в стимуляции репаративных процессов в миокарде, поврежденном введением больших доз изопроterenолола или наложением лигатуры на коронарные артерии. При этом отмечено их влияние на течение метаболических процессов в миокарде [52, 54].

В работе [55] изучали возможность коррекции биоэнергетики КМЦ в условиях гипоксии и ишемии препаратом кордиалин, выделенным из сердца крупного рогатого скота. Кордиалин представляет собой комплекс регуляторных пептидов с молекулярной массой 1–10 кДа, полученных методом кислотной экстракции и последующей гель-фильтрации на сефадексе G-25 [53]. Препарат, как было показано, не проявляет своего действия в норме, но способен восстанавливать функцию поврежденного миокарда [54, 56].

На суспензии КМЦ крыс, криостатных срезах и в гомогенатах миокарда, находящихся в гипоксических условиях, было показано, что пептиды кордиалина ингибируют патологически активированную в условиях недостатка кислорода сукцинат-

дегидрогеназу и интенсифицируют окислительные энергетически более выгодного субстрата НАДН₂, тем самым оказывая благоприятное действие на энергетический метаболизм, о чем свидетельствует увеличение содержания АТФ в миокарде. Коррекция кордиалином биоэнергетики КМЦ, находящихся в условиях гипоксии и ишемии, предотвращает аккумуляцию липидных капель в клетках околоинфарктной зоны, свидетельствующих о высокой интенсивности протекания процессов β -окисления жирных кислот. В результате отпадает необходимость в активации гликолиза (что подтверждается высоким содержанием гликогена в миокарде и низкими концентрациями глюкозы и лактата в крови), а следовательно, предотвращаются последствия, вызываемые ацидозом [55, 56].

Таким образом, кардиопротекторное действие пептидного препарата выражается в замедлении формирования зоны некроза после коронароокклюзии, прежде всего за счет оптимизации процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях [55]. Кроме того, терапия кордиалином, начатая в ранние сроки после экспериментального ИМ, значительно ослабляет ишемическое повреждение околоинфарктной зоны, стимулирует репаративные процессы в ней, что приводит к сохранению жизнеспособности КМЦ и нормализации их ультраструктуры, препятствуя расширению границ инфаркта [57].

Следует отметить отсутствие токсичности у этого препарата, поскольку терапевтическая и токсическая дозы отличаются более чем в 800 раз (при определении острой токсичности на мышах). Поскольку кордиалин способствует внутриклеточной регенерации поврежденных КМЦ, предполагается его непосредственное или опосредованное действие на процессы биосинтеза протеинов и нуклеиновых кислот [56].

Изучение ангиопротекторных свойств цитомедина, выделенного из аорты крупного рогатого скота — полипептидной фракции с молекулярной массой до 10 кДа, проводили в условиях моделирования различных видов атероартериосклероза и аутоиммунного васкулита [58].

Введение полипептидной фракции аорты как при пероксидном, так и холестероловом экспериментальном атероартериосклерозе способствовало нормализации липидного спектра крови (что проявлялось в снижении содержания холестерина и атерогенных липопротеидов), пероксидных процессов, коагуляционного гемостаза, восстановле-

нию эластического каркаса и состояния клеточных элементов стенки аорты. В стенке аорты также наблюдалось уменьшение накопления холестерина [58].

При экспериментальном аутоиммунном васкулите фракция аорты вызывала нормализацию вышеуказанных показателей крови и морфофункционального состояния стенки аорты. Восстанавливались функциональная активность и количественное соотношение лейкоцитов крови и снижалась гематогенная клеточная инфильтрация стенки аорты [58].

Было показано, что фракция полипептидов 1–10 кДа, выделенная из ткани мозга холодоадаптированного животного — якутской лошади, оказывает выраженное кардиотропное действие. Введение этой фракции животным за 1 ч до извлечения сердца приводило к улучшению параметров перфузии, что выражалось в снижении сопротивляемости сосудов сердца и стабилизации внешней мембраны КМЦ, а также сохранении способности миокарда к сокращению после 36-часовой гипотермической перфузии [59]. Кроме того, эта фракция, выделенная в зимний период, в диапазоне концентраций от 10 мг/мл до 0,3 мг/мл вызывала снижение скорости пассивного транспорта ионов Ca²⁺ и увеличение скорости активного транспорта в инвертированных везикулах сарколеммы КМЦ при физиологической концентрации кальция в среде инкубации [58–60].

Проводится работа по изучению структуры и биологического действия пептидов, синтезируемых КМЦ предсердий — кардиолатина и натрийуретического пептида (НУП) [61], которые играют важную роль в становлении кардиоваскулярного гомеостаза. Исследования экстрактов предсердий показали, что биологической активностью этих пептидов обладают соединения различной молекулярной массы — от 3 до 44 кДа. Биологическая активность пептидов предсердий проявляется через рецепторный аппарат базолатеральных мембран почек, эндотелия и клеток гладкой мускулатуры артерий, коры надпочечников, гипофиза. Действие НУП направлено главным образом на усиление диуреза и экскреции электролитов почками, а кардиолатина — на расслабление гладкой мускулатуры артерий.

Было установлено, что СН сопровождается значительным (в 10 раз) увеличением синтеза НУП как в периферической крови, так и в крови правого предсердия, что блокирует активность циркулирующего звена

ренинангиотензиальдостероновой системы и улучшает состояние больных. При лечении концентрация этого пептида снижается параллельно с уменьшением отечности и достигает нормального уровня при исчезновении отеков и улучшении сердечной деятельности [62]. В настоящее время проходит клиническое исследование препарат несиририд, представляющий собой НУП, структурно идентичный эндогенному мозговому НУП человека. Действие препарата направлено на потенцирование эффектов данного пептида. Применение несиририда при СН вызывало быстрое дозозависимое вазодилатирующее действие; при внутривенном введении быстро и значительно снижалось давление в концевых легочных капиллярах по сравнению с внутривенным введением нитроглицерина [63].

Использование в терапии инфаркта миокарда экстрактов фетальных и ювенильных органов и тканей животных

Известно, что продукты лизиса различных клеток и тканей, экстракты и гомогенаты из нативных и обработанных разными способами тканей стимулируют рост и интенсифицируют функции клеточных систем [64, 65]. Было показано, что продукты деструкции содержат вещества, являющиеся биостимуляторами и обладающие в основном не тканеспецифическим действием. Функциональный эффект продуктов лизиса клеток связывают с массивным выходом энзимов и других активных факторов, которые секретируются живыми клетками, в том числе и медиаторов, а также образованием большого количества физиологически активных продуктов из разрушенных клеточных компонентов — цитоплазматических и ядерных протеинов, полипептидов и аминокислот, нуклеотидов, фосфолипидов и т. д. Лизосомальные кислые гидролазы и нейтральные протеиназы, выходящие в большом количестве в ткани при массивном разрушении лейкоцитов и макрофагов, а также протеазы тучных клеток существенно и многогранно влияют на клеточные системы, в частности способны усиливать регенерацию.

Экстракты, полученные из здоровых фетальных и ювенильных органов и тканей животных, обладают еще одним положительным свойством. Их действие основано на принципе гомологичности или органо-тканевого подобия: например, фетальный экстракт, выделенный из органа животного,

кумуляруется в гомологичном органе человека и оказывает на него прямое влияние независимо от способа введения [66]. За раскрытие механизма этого эффекта, называемого органным тропизмом, американский исследователь Г. Блобель в 1999 г. был удостоен Нобелевской премии по медицине.

Органопрепараты — своего рода биомолекулярный эталон для гомологичных тканей и органов человека, несущий специфику биомолекул, характерную для каждой ткани. Этот эталон отражает естественный баланс биомолекул, их соотношение между собой, а также различные химические составляющие (в виде лигандов, солей, ионов и т. п.), характеризующие ткань или орган, что невозможно создать искусственным путем. Все это обеспечивает максимальную эффективную усвояемость (быстрое и качественное включение в метаболизм) компонентов препарата и быстрое воздействие на физиологические процессы поврежденной или патологически измененной клетки [66].

В связи с этим перспективным направлением стала разработка кардиопротекторных и биостимулирующих препаратов, действие которых направлено на поддержание оптимального режима биоэнергетических процессов в условиях гипоксии и ишемии, что является принципиальным моментом выживания КМЦ при ИМ [67–69].

Известным природным источником биопрепаратов, способных улучшать метаболизм в сердечной мышце, является кровь молочных телят. В настоящее время одним из наиболее изученных биопрепаратов является актовегин (Nycomed, Австрия) — высокоочищенный беспротеиновый гемодериват, получаемый из крови молочных телят методом ультрафильтрации. Он содержит физиологически активные вещества с молекулярной массой до 5 кДа: аминокислоты, олигопептиды, нуклеозиды, продукты углеводного и жирового обмена (олигосахариды, гликолипиды), электролиты (Mg, Na, Ca, P, K) и микроэлементы (Si, Cu).

Фармакологическое действие Актовегина основано на улучшении транспортировки и утилизации глюкозы в сочетании со стимуляцией поглощения клетками кислорода, в результате чего повышается обмен высокоэнергетических фосфатов (АТФ), активируются энзимы окислительного фосфорилирования (пируват- и сукцинатдегидрогеназы, цитохром с-оксидаза), повышается активность щелочной фосфатазы, ускоряется синтез углеводов и протеинов, возрастает приток

в клетку ионов K^+ , что приводит к активации калийзависимых энзимов — каталаза, сахараз, глюкозидаз, ускоряется распад продуктов анаэробного гликолиза — лактата, β -гидроксibuтирата [67, 70].

Клинические исследования влияния актовегина на течение острого ИМ показали необходимость включения его в комплексную терапию этого заболевания в качестве активного метаболита [67]. Антигипоксический эффект актовегина при лечении ИМ выражался в снижении потребления миокардом кислорода в результате уменьшения периферического сопротивления и улучшения утилизации глюкозы и кислорода. Применение актовегина в комплексной терапии ИМ [67] способствовало снижению частоты осложнений острого периода, ранней летальности, а также более быстрой нормализации сократительной способности миокарда левого желудочка, благоприятно влияло на метаболизм липидов. Вследствие действия актовегина наблюдалось улучшение микроциркуляции, связанное с оптимизацией аэробного обмена сосудистого эндотелия, способствующего высвобождению вазодилататоров — простаглицлина и оксида азота. Антиоксидантное действие биопрепарата обусловлено его высокой супероксиддисмутазной активностью, наличием магния и микроэлементов, входящих в простетическую группу супероксиддисмутазы (СОД) [67].

В работе [71] показано, что экстракт из миокарда молодых животных и ионы Ca^{2+} осуществляют позитивный контроль размножения культивируемых мышечных клеток сердца, в то время как вытяжка из миокарда зрелых особей, напротив, подавляет синтетическую способность КМЦ.

Ткани эмбриофетоплацентарного комплекса содержат большое количество различных активаторов регенерации и дифференциации: факторы роста фибробластов и нервов, фактор, стимулирующий рост макрофагальных и эритроидных колоний, а также антипролиферативные цитокины, предотвращающие клеточную и системную гиперстимуляцию. Фетальные клетки и их ассоциаты практически не иммуногенны, поскольку в 1-м и 2-м триместрах гестации на них не экспрессированы протеины гистосовместимости 1-го и 2-го класса. В связи с этим изучается возможность использования в терапии ишемического повреждения миокарда продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса, в частности экстрактов и ткани плаценты. Плацента является естественным депо и продуцентом практически всего спек-

тра биологически активных веществ, обеспечивающих рост и развитие организма плода: гормонов, витаминов, иммуностимуляторов, цитокинов, интерлейкинов, ростовых факторов, природных антиоксидантов [72, 73]. Установлено, что при использовании экстракта плаценты повышается репаративная способность миокарда, улучшается трофика сердечно-сосудистой системы [73, 74]. Эффективность такой терапии связывают с наличием в экстракте плаценты (препарат «Криоцелл-криоэкстракт плаценты») α -фетопротейна (229 ± 75 МЕ/мл), хорионического гонадотропина ($26,8 \pm 8$ мМЕ/мл), эстрадиола (755 ± 48 МЕ/л), прогестерона (226 ± 1 нМ/мл), пролактина (705 ± 129 мМЕ/л), тестостерона (160 ± 25 нМ/л) [47]. Клинический эффект после введения экстракта плаценты сохраняется на протяжении трех месяцев [73, 75].

Наблюдался дозозависимый эффект влияния водно-солевого экстракта плаценты на скорость поглощения кислорода и энергетическое состояние митохондрий миокарда [76, 77]. Замедление синтеза АТФ при повышении дозы препарата плаценты может быть вызвано высоким содержанием макроэргических соединений, в частности АТФ, что при отрицательной обратной связи оказывает регулирующий эффект, выражающийся в снижении потребления кислорода митохондриями.

Показана эффективность использования при лечении ишемических повреждений и атеросклероза фрагментов ткани плаценты (биопрепарат «Криоплацента»). В комплексной терапии ишемической болезни сердца (ИБС) применение фрагментов ткани плаценты способствовало снижению холестерина в сыворотке крови на 19,2%, что, в свою очередь, на 38% снижало уровень риска дальнейшего развития заболевания [73].

Было показано антиатерогенное действие аллогенной криоконсервированной плаценты (АКП) при экспериментальном атеросклерозе [78]. Введение АКП на фоне регресса экспериментального атеросклероза ускоряло процесс нормализации показателей липидного обмена, приводило к восстановлению структурно-функциональной целостности эндотелия, вызывало стимуляцию системы мононуклеарных фагоцитов и активацию механизма лейкоцитарного клиренса липидов из сосудистой стенки. Благодаря введению АКП неангиогенез происходил не только в миокарде, но и в стенке аорты, что способствовало ускоренному обратному развитию атеросклероза. По

мнению автора, антиатерогенные эффекты АКП достигаются за счет действия эстрадиола и тироксина, которые стимулируют рецепторзависимый катаболизм липопротеидов низкой плотности и блокируют синтез липопротеидов очень низкой плотности.

Путем трансплантации криоконсервированной плацентарной ткани показана также возможность влияния на процессы гемокоагуляции при ишемии сердечной мышцы [63, 79]. Трансплантация плаценты на фоне базисной терапии ИБС способствовала снижению частоты приступов стенокардии, уменьшению дозы приема нитроглицерина, оказывала выраженное стимулирующее влияние на систему гемостаза, а также эндотелий коронарных сосудов [75]. Были выявлены изменения липидного обмена: через 3 месяца лечения снижался уровень β -липопротеидов, повышался уровень холестерина и β -липопротеидов высокой плотности. Наблюдалось снижение ПОЛ, а также активация каталазы и СОД. Возможно, повышение активности каталазы является адаптивно-компенсаторным процессом, связанным с увеличением продукции пероксида водорода, который разрушает мембраны эритроцитов и способствует гемолизу. Кроме того, эстрогены, уровень которых в плацентарной ткани составляет 755 ± 48 МЕ/л, способны активировать каталазу.

В клинике внутренних болезней используют биопрепарат эрбисол, представляющий собой раствор продуктов гидролиза клеточных мембран эмбриональной ткани куриных зародышей [80]. Он содержит комплекс непротеиновых низкомолекулярных органических соединений негормонального происхождения: аминокислоты, пептиды, гликопептиды, нуклеотиды. Фармакологические свойства и активность эрбисола определяются содержащимися в нем специфическими гликопептидами, направленно активизирующими иммунную систему на поиск и устранение патологических изменений в органах и тканях. Обладая антиоксидантными свойствами, эрбисол оказывает опосредованное нормализующее влияние на углеводный и липидный обмен, благодаря чему положительно действует на сердечно-сосудистую систему при ишемии. Уменьшение содержания конечных продуктов ПОЛ способствует восстановлению эндотелийзависимой регуляции кровообращения, энзиматической активности мембран митохондрий и микросом КМЦ, предупреждает развитие периваскулярного фиброза, изменений в нервных волокнах и сократитель-

ной системе миокарда. Препарат также оказывает кардиотоническое действие.

В настоящее время проводятся исследования по изучению биологической активности низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) из кордовой крови крупного рогатого скота [81, 82, 83]. Конечный продукт получают ультрафильтрацией раствора, содержащего компоненты плазмы крови и вещества, высвободившиеся из форменных элементов в процессе замораживания-оттаивания крови (без использования какой-либо жесткой обработки с целью гидролиза макромолекул). Благодаря применению такой методики в состав фракции входят только естественные низкомолекулярные соединения, характерные для кордовой крови. Проведенные доклинические исследования биологической активности низкомолекулярной фракции показали ее рано- [81–83] и язвозаживляющее [82, 84, 85] действие. В связи с этим перспективным является изучение возможности применения биопрепарата на ее основе для репаративной регенерации миокарда.

Использование в терапии инфаркта миокарда природных антиоксидантов

Естественными антиоксидантами в клетках являются никотинамидадениндинуклеотид (НАД), цитохром *c*, коэнзим Q10 (убихинон), инозит и др. В условиях гипоксии при остром ИМ КМЦ теряют НАД — коэнзим дегидрогеназы гликолиза и цикла Кребса и цитохром *c* — энзим цепи переноса электронов, с которым в митохондриях через окислительное фосфорилирование сопряжен синтез АТФ. Выход из митондрий цитохрома *c* ведет не только к развитию энергодифицита, но и способствует образованию свободных радикалов и прогрессированию оксидативного стресса, заканчивающихся апоптической гибелью клеток.

Биопрепаратом, в составе которого содержатся все три субстанции — НАД, цитохром *c* и инозин, является энергостим, оказывающий антиоксидантное и антигипоксическое действие на клеточный метаболизм. За счет комбинированного состава эффективность этого препарата при лечении ИМ в составе традиционной терапии во много раз превосходит действие других антигипоксантов [68]. Внутривенное введение энергостима усиливает коронарный кровоток, способствуя доставке и утилизации кислорода.

При ишемии миокарда широко используется коэнзим Q10 или убихинон — витаминоподобное вещество, участвующее как

в электронном транспорте в митохондриях, так и в сопряжении процессов электронного транспорта и окислительного фосфорилирования [69]. Коэнзим Q10 эффективно защищает от процессов пероксидного окисления липиды биологических мембран и липопротеиды крови, предохраняет ДНК и протеины от воздействия активных форм кислорода. Установлена эффективность его применения при реперфузионном синдроме для сохранения субклеточных структур КМЦ, подвергнутых ишемическому стрессу, и восстановления функции окислительного фосфорилирования митохондрий [86].

Убихинон и цитохром *c* в промышленности выделяют из ткани сердца крупного рогатого скота. В отличие от других антиоксидантов, которые, выполняя свою функцию, необратимо окисляются сами, убихинон обладает регенеративной способностью под действием энзиматических систем организма и не требует дополнительного введения.

Таким образом, в терапии ишемического повреждения сердца активно используют подходы, альтернативные клеточной трансплантации. Перспективными в этом отношении являются следующие направления.

Во-первых, использование протеинов, обладающих терапевтическим потенциалом для регенерации миокарда. Проведенные исследования показали, что только 1 протеин (Г-КСФ) может быть применен для мобилизации гемопоэтических СК и всего 2 протеина с хемотаксическими свойствами на СК: SDF-1 — на эндотелиальные клетки-предшественники и HGF — на СК сердца. Аттрактантом мезенхимных СК является моноцитхемотаксический протеин-3 [87], однако пока неизвестно, улучшает ли его локальная доставка сердечную функцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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. 7–12.
2. Segers V. F., Lee R. T. Protein Therapeutics for cardiac regeneration after myocardial infarction // J. Cardiovasc. Transl. Res. — 2010. — V. 3, N 5. — P. 469–477.
3. Padin-Iruegas M. E., Misao Y., Davis M. E. et al. Cardiac progenitor cells and biotinylated insulin-like growth factor-1 nanofibers improve endogenous and exogenous myocardial regeneration after infarction // Circulation. — 2009. — V. 120, N 10. — P. 876–887.

Во-вторых, перспективным направлением является разработка кардиопротекторных и биостимулирующих препаратов, способных оптимизировать внутриклеточный энергообмен КМЦ и противостоять окислительному стрессу. Применение таких биопрепаратов, как кордиалин, актовегин, эрбисол, энергостим, способствует замедлению формирования зоны некроза после коронароокклюзии, прежде всего за счет оптимизации процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях, значительно ослабляет ишемическое повреждение околоинфарктной зоны, стимулирует репаративные процессы в ней, что приводит к сохранению жизнеспособности КМЦ и нормализации их ультраструктуры.

Использование тканей эмбриофетоплацентарного комплекса также повышает репаративную способность миокарда. Основное свойство таких биопрепаратов как биогенных стимуляторов состоит в том, что в их составе есть сбалансированный комплекс биологически активных веществ, в частности различных активаторов регенерации и дифференциации (факторы роста фибробластов, нервов, фактор, стимулирующий рост макрофагальных и эритроидных колоний), а также антипролиферативных цитокинов, предотвращающих клеточную и системную гиперстимуляцию. Кроме того, фетальные клетки и их ассоциаты практически не иммуногенны.

Таким образом, если будут синтезированы факторы роста и дифференциации, способные регулировать митотическую активность КМЦ, станет возможным направленно инициировать процесс дифференцировки СК и воздействовать на регенерацию миокарда человека, а следовательно, оптимизировать лечение такого тяжелого заболевания, как ИМ.

4. Epstein S. E., Kornowski R., Fuchs S., Dvorak H. F. Angiogenesis therapy: amidst the hype, the neglected potential for serious side effects // Ibid. — 2001. — V. 104, N 1. — P. 115–119.
5. Henry T. D., Rocha-Singh K., Isner J. M. et al. Intracoronary administration of recombinant human vascular endothelial growth factor to patients with coronary artery disease // Am. Heart J. — 2001. — V. 142, N 5. — P. 872–880.
6. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer // Oncology. — 2005. — V. 69, Suppl. 3. — P. 4–10.
7. Lee R. J., Springer M. L., Blanco-Bose W. E. et al. VEGF gene delivery to myocardium: deleterious effects of unregulated expression // Circulation. — 2000. — V. 102, N 8. — P. 898–901.
8. London N., Whitehead K., Li D. Endogenous endothelial cell signaling systems maintain

- vascular stability // *Angiogenesis*. — 2009. — V. 12, N 2. — P. 149–158.
9. *Byrne A. M., Bouchier-Hayes D. J., Harmey J. H.* Angiogenic and cell survival functions of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) // *J. Cell. Mol. Med.* — 2005. — V. 9, N 4. — P. 777–794.
 10. *Carmeliet P.* Angiogenesis in life, disease and medicine // *Nature*. — 2005. — V. 438, N 7070. — P. 932–936.
 11. *Scott R. C., Rosano J. M., Ivanov Z. et al.* Targeting VEGF-encapsulated immunoliposomes to MI heart improves vascularity and cardiac function // *FASEB J.* — 2009. — V. 23, N 10. — P. 3361–3367.
 12. *Iyer S., Acharya K. R.* Role of placenta growth factor in cardiovascular health // *Trends Cardiovasc. Med.* — 2002. — V. 12, N 3. — P. 128–134.
 13. *Nakamura T., Funayama H., Kubo N. et al.* Elevation of plasma placental growth factor in the patients with ischemic cardiomyopathy // *Int. J. Cardiol.* — 2009. — V. 131, N 2. — P. 186–191.
 14. *Luttun A., Tjwa M., Moons L. et al.* Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1 // *Nat. Med.* — 2002. — V. 8, N 8. — P. 831–840.
 15. *Kolakowski S. Jr., Berry M. F., Atluri P. et al.* Placental growth factor provides a novel local angiogenic therapy for ischemic cardiomyopathy // *J. Card. Surg.* — 2006. — V. 21, N 6. — P. 559–564.
 16. *Autiero M., Waltenberger J., Communi D. et al.* Role of PlGF in the intra- and intermolecular cross talk between the VEGF receptors Flt1 and Flk1 // *Nat. Med.* — 2003. — V. 9, N 7. — P. 936–943.
 17. *Depping R., Kawakami K., Ocker H. et al.* Expression of the erythropoietin receptor in human heart // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2005. — V. 130, N 3. — P. 877–878.
 18. *Anagnostou A., Liu Z., Steiner M. et al.* Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1994. — V. 91, N 9. — P. 3974–3978.
 19. *Yi-Da Tang, Faisal Hasan, Frank J. Giordano et al.* Effects of recombinant human erythropoietin on platelet activation in acute myocardial infarction: results of a double-blind, placebo-controlled randomized trial // *Am. Heart J.* — 2009. — V. 158, N 6. — P. 941–947.
 20. *Hirata A., Minamino T., Asanuma H. et al.* Erythropoietin enhances neovascularization of ischemic myocardium and improves left ventricular dysfunction after myocardial infarction in dogs // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2006. — V. 48, N 1. — P. 176–184.
 21. *Arcasoy M. O.* The non-haematopoietic biological effects of erythropoietin // *Br. J. Haematol.* — 2008. — V. 141, N 1. — P. 14–31.
 22. *Лакомкин В. Л., Алоев Р. С., Черпаченко Н. М. и др.* Влияние цитокина лейкома на функцию и регенерацию миокарда у крыс с экспериментальным инфарктом // *Эксперимент. кардиол.* — 2005. — № 3. — С. 64–70.
 23. *Segers V. F., Lee R. T.* Stem-cell therapy for cardiac disease // *Nature*. — 2008. — V. 451, N 7181. — P. 937–942.
 24. *Orlic D., Kajstura J., Chimenti S. et al.* Mobilized bone marrow cells repair the myocardial heart, improving function and survival // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — V. 98, N 18. — P. 10344–10349.
 25. *Quaini F., Cigola E., Lagrasta C. et al.* End-stage cardiac failure in humans is coupled with the induction of proliferating cell nuclear mitotic diversion in ventricular myocytes // *Circ. Res.* — 1994. — V. 75, N 6. — P. 1050–1063.
 26. *Quaini F., Urbanek K., Beltrami A. P. et al.* Chimerism of the transplanted heart // *N. Engl. J. Med.* — 2002. — V. 346, N 1. — P. 5–15.
 27. *Orlic D.* Stem cell repair in ischemic heart disease: an experiment models // *Int. J. Hematol.* — 2002. — V. 76, Suppl. 1. — P. 144–145.
 28. *Taylor D. A., Hruban R., Rodriguer E. R. et al.* Cardiac chimerism as a mechanism for self repair: does it happen and if so to what degree? // *Circulation*. — 2002. — V. 106, N 1. — P. 2–4.
 29. *Orlic D., Kaistura J.* Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — V. 98, N 8. — P. 10344–10349.
 30. *Abdel-Latif A., Bolli R., Zuba-Surma E. K. et al.* Granulocyte colony-stimulating factor therapy for cardiac repair after acute myocardial infarction: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials // *Am. Heart J.* — 2008. — V. 156, N 2. — P. 216–226.
 31. *Harada M., Qin Y., Takano H. et al.* G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating the Jak-Stat pathway in cardiomyocytes // *Nat. Med.* — 2005. — V. 11, N 3. — P. 305–311.
 32. *Nakamura T., Nishizawa T., Hagiya M. et al.* Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor // *Nature*. — 1989. — V. 342, N 6248. — P. 440–443.
 33. *Boros P., Miller C. M.* Hepatocyte growth factor: a multifunctional cytokine // *Lancet*. — 1995. — V. 345, N 8945. — P. 293–295.
 34. *Nakamura T., Mizuno S., Matsumoto K. et al.* Myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by endogenous and exogenous HGF // *J. Clin. Invest.* — 2000. — V. 106, N 12. — P. 1511–1519.
 35. *Urbanek K., Rota M., Cascapera S. et al.* Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that after activation regenerate the infarcted myocardium, improving ventricular function and long-term survival // *Circ. Res.* — 2005. — V. 97, N 7. — P. 663–673.

36. Wang Y., Ahmad N., Wani M. A., Ashraf M. Hepatocyte growth factor prevents ventricular remodeling and dysfunction in mice via Akt pathway and angiogenesis // *J. Mol. Cell. Cardiol.* — 2004. — V. 37, N 5. — P. 1041–1052.
37. Beltrami A. P., Barlucchi L., Torella D. et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration // *Cell.* — 2003. — V. 114, N 6. — P. 763–776.
38. Oh H., Bradfute S. B., Gallardo T. D. et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — V. 100, N 21. — P. 12313–12318.
39. Yamaguchi J., Kusano K. F., Masuo O. et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization // *Circulation.* — 2003. — V. 107, N 9. — P. 1322–1328.
40. Askari A. T., Unzek S., Popovic Z. B. et al. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy // *Lancet.* — 2003. — V. 362, N 9385. — P. 697–703.
41. Segers V. F., Tokunou T., Higgins L. J. et al. Local delivery of protease-resistant stromal cell derived factor-1 for stem cell recruitment after myocardial infarction // *Circulation.* — 2007. — V. 116, N 15. — P. 1683–1692.
42. Bergmann O., Bhardwaj R. D., Bernard S. et al. Evidence for Cardiomyocyte Renewal in Humans // *Science.* — 2009. — V. 324, N 5923. — P. 98–102.
43. Borchardt T., Braun T. Cardiovascular regeneration in non-mammalian model systems: what are the differences between newts and man? // *Thromb. Haemost.* — 2007. — V. 98, N 2. — P. 311–318.
44. Kuhn B., del Monte F., Hajjar R. J. et al. Periostin induces proliferation of differentiated cardiomyocytes and promotes cardiac repair // *Nat. Med.* — 2007. — V. 13, N 8. — P. 962–969.
45. Bersell K., Arab S., Haring B., Kohn B. Neuregulin1/ErbB4 signaling induces cardiomyocyte proliferation and repair of heart injury // *Cell.* — 2009. — V. 138, N 2. — P. 257–270.
46. Conway S. J., Molkenkin J. D. Periostin as a heterofunctional regulator of cardiac development and disease // *Curr. Genomics.* — 2008. — V. 9, N 8. — P. 548–555.
47. Oka T., Xu J., Kaiser R. A. et al. Genetic manipulation of periostin expression reveals a role in cardiac hypertrophy and ventricular remodeling // *Circ. Res.* — 2007. — V. 101, N 3. — P. 313–321.
48. Lemmens K., Segers V. F., Demolder M., de Keulenaer G. W. Role of neuregulin-1/ErbB2 signaling in endothelium-cardiomyocyte cross-talk // *J. Biol. Chem.* — 2006. — V. 281, N 28. — P. 19469–19477.
49. Padin-Iruegas M. E., Misao Y., Davis M. E. et al. Cardiac progenitor cells and biotinylated insulin-like growth factor-1 nanofibers improve endogenous and exogenous myocardial regeneration after infarction // *Circulation.* — 2009. — V. 120, N 10. — P. 876–887.
50. Rota M., Padin-Iruegas M. E., Misao Y. et al. Local activation or implantation of cardiac progenitor cells rescues scarred infarcted myocardium improving cardiac function // *Circ. Res.* — 2008. — V. 103, N 1. — P. 107–116.
51. Filipczyk A., Passier R., Rochat A., Mummery C. Cardiovascular development: towards biomedical applicability // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2007. — V. 64, N 6. — P. 704–718.
52. Кузник Б. И., Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. Цитомедины и их роль в регуляции физиологических функций // *Усп. совр. биол.* — 1995. — Т. 115, Вып. 3. — С. 353–367.
53. Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем — цитомедины // Там же. — 1983. — Т. 96, Вып. 3. — С. 339–352.
54. Слепушкин В. Д., Павленко В. С., Хавинсон В. Х., Морозов В. Г. Влияние полипептидов, выделенных из сердца, на течение экспериментального инфаркта миокарда // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* — 1987. — № 1. — С. 26–27.
55. Павленко В. С., Хлыстов В. В., Андреева Л. И. и др. Влияние препарата, выделенного из сердца, на биоэнергетику кардиомиоцитов в условиях гипоксии и ишемии // *Патол. физиол. эксперимент. терапия.* — 1992. — № 2. — С. 20–24.
56. Бахтизина Г. З., Хавинсон В. Х., Биктимирова Г. А. и др. Коррекция пептидами сердца поражения миокарда тетраметилтиурамдисульфидом // Там же. — 1992. — № 2. — С. 27–30.
57. Хлыстов В. В., Павленко В. С., Хавинсон В. Х. и др. Ультраструктура околоинфарктной зоны при лечении кардиолином экспериментального инфаркта миокарда // *Арх. патол.* — 1989. — № 9. — С. 27–31.
58. Чекалина Н. І. Ангіопротекторні властивості пептидної фракції аорти при експериментальному атеросклеротичному та аутоімунному ураженні судин: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.05. / *Укр. мед. стомат. академія*, 2002. — 20 с.
59. Терещенко О. С. Біологічна активність та механізм дії фракції поліпептидів 1-10 кД з тканин гібернуючих та холодоадаптованих тварин: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.22. / *Ін-т пробл. кріобіол. і кріомед. НАН України*, 1994. — 17 с.
60. Гулевский А. К., Грищенко В. И., Терещенко О. С. и др. Влияние фракции (1-10 кД) мозга якутской лошади на кинетические параметры Ca^{2+} -транспортирующих систем в везикулах сарколеммы кардиомиоцитов // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* — 1992. — № 9. — С. 274–278.

61. Гулевский А. К., Терещенко О. С., Ахременко А. К., Тищенко И. Ю. Фармакологические эффекты из мозга адаптированной к холоду якутской лошади // Сб. науч. тр. «Лечебная гипотермия». — Харьков, 1992. — С. 153–158.
62. Алексеенко Л. П., Орехович В. Н. Эндокринная функция сердца. Структура и биологические свойства пептидов, синтезируемых предсердиями // Мол. биол. — 1987. — Т. 21, Вып. 2. — С. 293–308.
63. Rossi G. P. Dual ACE and NEP inhibitors: A review of the pharmacological properties of MDL 100, 240 // *Cardiovasc. Drug Rev.* — 2003. — V. 21, N 1. — P. 51–66.
64. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). — М.: Медицина, 1981. — 312 с.
65. Пат. 35631 Україна, МПК А61К 35/48, А61К 35/54, А61К 38/02. Спосіб виготовлення біологічно активних препаратів з ембріональних тканин / Шорох Д. Б., заявник і патентовласник Шорох Д. Б. — № 96072998; Заявл. 25.07.97; Опубл. 16.04.01, Бюл. № 3, с. 3.1.16.
66. Ролик И. С. Фетальные органопрепараты: клиническое применение. Руководство для врачей. — М.: РегБиоМед, 2003. — 736 с.
67. *Актовегин*. Новые аспекты клинического применения / Под ред. С. А. Румянцевой. — М., 2002. — 280 с.
68. Андриадзе Н. А., Сукоян Г. В., Отаршвили Н. О. и др. Антигипоксанта прямого действия энергостим в лечении ОИМ // *Росс. мед. вести.* — 2001. — № 2. — С. 31–42.
69. Коровина Н. А. Использование коэнзима Q10 в профилактике и лечении. Применение антиоксидантного препарата кудесан (коэнзим Q10 с витамином E) в кардиологии. — М., 2002. — С. 3–7.
70. Нордвик Б. Механизм действия и клиническое применение препарата актовегин. Новые аспекты применения актовегина в клинической практике. — М., 1995. — 260 с.
71. Шпотько И. С. Гистогенетические процессы в развивающемся миокарде млекопитающих: Монография. — Днепропетровск: Пороги, 1996. — 228 с.
72. *Иммунологические методы* / Под ред. Г. Фримля. — М.: Медицина, 1987. — 128 с.
73. *Клеточная и тканевая трансплантация. Биопрепараты.* — Харьков: ИПКиК НАНУ, МНЦ криобиологии и криомедицины НАН, АМН и МОЗ Украины, 2003. — 67 с.
74. Грищенко В. И., Гольцев А. Н. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения // *Пробл. криобиол.* — 2002. — № 1. — С. 54–84.
75. Шепітько К. В. Вплив препаратів кріоконсервованої плаценти на перекисні показники у хворих на стабільну стенокардію // *Там само.* — 2004. — № 1. — С. 70–74.
76. Ichim T. E., Solano F., Brenes R. et al. Placental mesenchymal and cord blood stem cell therapy for dilated cardiomyopathy // *Reprod. Biomed. Online.* — 2008. — V. 16, N 6. — P. 898–905.
77. Okamoto K., Miyoshi S., Toyoda M. et al. 'Working' cardiomyocytes exhibiting plateau action potentials from human placenta-derived extraembryonic mesodermal cells // *Exp. Cell. Res.* — 2007. — V. 313, N 12. — P. 2550–2562.
78. Кондаков И. И. Антиатерогенное действие кріоконсервованої плаценти при експериментальном атеросклерозе: Дис. ... канд. мед. наук: 14.01.35. / Ин-т пробл. криобиол. и криомед. НАН Украины, 2008. — 124 с.
79. Грищенко В. И., Сандомирский Б. П. Концепция клеточной терапии // *Пробл. криобиол.* — 2000. — № 1. — С. 3–7.
80. Николаенко А. Н. Концептуальные подходы в разработке высокоэффективных лекарственных препаратов нового поколения класса «Эрбисол» // *Фармакол. вісник.* — 1998. — № 6. — С. 69–74.
81. Гулевский А. К., Моисеева Н. Н., Щенявский И. И. и др. Исследование действия фракции до 5 кДа из пуповинно-плацентарной крови крупного рогатого скота на процессы репарации // *Трансплантологія.* — 2007. — Т. 9, № 1. — С. 60–62.
82. Гулевский А. К., Грищенко В. И., Моисеева Н. Н. и др. Эффект стимуляции репаративных процессов под влиянием фракции до 5 кДа из пуповинно-плацентарной крови крупного рогатого скота // *Доп. НАН України.* — 2008. — № 2. — С. 157–160.
83. Щенявський І. Й. Вплив фракції до 5 кДа з пуповинно-плацентарної крові великої рогатої худоби на вміст глюкози та лактату і порувану у тканині опікових ран // *Експеримент. клін. фізіол. біохім.* — 2010. — № 1. — С. 50–53.
84. Гулевский А. К., Абакумова Е. С., Моисеева Н. Н., Долгих О. Л. Влияние фракции кордовой крови (до 5 кДа) крупного рогатого скота на биохимические показатели крови при экспериментальной субхронической язве желудка у крыс // *Укр. біохім. журн.* — 2008. — Т. 80, № 2. — С. 120–127.
85. Гулевський О. К., Абакумова О. С., Моїсєєва Н. М. Вивчення противиразкової активності низькомолекулярної фракції (до 5 кДа) крові великої рогатої худоби в залежності від стадії онтогенезу // *Клін. фармація.* — 2009. — Т. 13, № 2. — С. 54–58.
86. Капелько В. И. Исследование действия коэнзима Q10 (убихинона) при ишемии и реперфузии сердца. Применение антиоксидантного препарата кудесан (коэнзим Q10 с витамином E) в кардиологии. — М., 2002. — С. 8–14.
87. Schenk S., Mal N., Finan A. et al. Monocyte chemotactic protein-3 is a myocardial mesenchymal stem cell homing factor // *Stem Cells.* — 2007. — V. 25, N 1. — P. 245–251.

ВИКОРИСТАННЯ БІОПРЕПАРАТІВ У ТЕРАПІЇ ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ СЕРЦЯ

*О. К. Гулевський
О. С. Абакумова
І. Й. Щенявський*

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини
НАН України, Харків

E-mail: danalado@rambler.ru

Розглянуто перспективи застосування в експерименті і в клініці ішемічного ушкодження міокарда біологічно активних речовин: факторів росту, цитомединів, природних антиоксидантів, речовин, що містяться в екстрактах з ювенільних і фетальних органів і тканин тварин. Поряд з добре вивченими і широко використовуваними в клінічній практиці біопрепаратами тваринного походження, такими як кордіалін, актовегін, ербісол, несиритид, енергостим, як перспективні засоби для терапії серцево-судинних захворювань розглядаються екстракти із серця та низькомолекулярна фракція кордової крові. Показано, що використання тканин ембріофетоцитарного комплексу підвищує репаративну здатність міокарда. Основна відмінність таких біопрепаратів як біогенних стимуляторів полягає в тому, що в їхньому складі є збалансований комплекс біологічно активних речовин, зокрема різних активаторів регенерації і диференціації (фактори росту фібробластів, нервів, фактор, що стимулює ріст макрофагальних і еритроїдних колоній), а також антипроліферативних цитокінів, що запобігають клітинній і системній гіперстимуляції. Крім того, фетальні клітини та їх асоціати практично не імуногенні. Таким чином, якщо буде визначено фактори росту і диференціації, здатні регулювати мітотичну активність кардіоміоцитів, стане можливим спрямовано ініціювати процес диференціювання стовбурових клітин і впливати на регенерацію міокарда людини, а отже, оптимізувати лікування інфаркту міокарда.

Ключові слова: інфаркт міокарда, біологічно активні речовини, фактори росту, цитомедични, антиоксиданти, екстракти тканини серця, кордової крові, фетальних тканин.

BIOPREPARATIONS USING IN THE ISCHEMIC HEART INJURY THERAPY

*A. K. Gulevsky
Ye. S. Abakumova
I. I. Schenyavsky*

Institute for Problems of Cryobiology and
Cryomedicine of National Academy of Sciences
of Ukraine, Kharkiv

E-mail: danalado@rambler.ru

Possibility of biologically active substances using such as growth factors, cytomedines, natural antioxidants, substances contained in extracts from juvenile and fetal organs and animal tissues in the experiments and clinic of ischemic heart injury are discussed. Along with the well-studied and widely used in clinical practice biopreparations such as kordialin, actovegin, erbisol nesiritide, energostim, as promising tools for treatment of cardiovascular diseases, the extracts from the heart and low molecular weight fraction of cord blood are considered. It is shown that using of tissue reparative embriofetoplatsenta complex increases myocardial contractility. The main difference between these biopreparations and biogenic stimulants is that they have a balanced composition of biologically active substances, in particular different activators of regeneration and differentiation (fibroblast growth factors, nerve-stimulating factor and macrophage erythroid colonies) and anti-proliferative cytokines preventing cellular and systemic hyperstimulation as well as other substances able to initiate a directed differentiation of stem cells and to affect regeneration of human myocardium, and hence to optimize the treatment of myocardial infarction. In addition, fetal cells and their associates are almost nonimmunogens.

Thus, if the growth factors and differentiation capable to regulate the mitotic activity of cardiomyocytes are determined, it will be possible to initiate a process of stem cells directed differentiation and affect on the human myocardium regeneration, and hence to optimize the treatment of myocardial infarction.

Key words: myocardial infarction, biologically active substances, growth factors, cytomedines, antioxidants, extracts from heart, cord blood, fetal tissues.