

РЕГЕНЕРАЦИЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ.

Сердечная мышечная ткань

Гистогенез и виды клеток. Источники развития сердечной поперечнополосатой мышечной ткани — симметричные участки висцерального листка спланхнотома в шейной части зародыша — так называемые миоэпикардальные пластинки. Из них дифференцируются также клетки мезотелия эпикарда. В ходе гистогенеза возникает 3 вида кардиомиоцитов:

1. рабочие, или типичные, или же сократительные, кардиомиоциты,
2. атипичные кардиомиоциты (сюда входят пейсмекерные, проводящие и переходные кардиомиоциты, а также
3. секреторные кардиомиоциты.

Рабочие (сократительные) кардиомиоциты образуют свои цепочки. Укорачиваясь, они обеспечивают силу сокращения всей сердечной мышцы. Рабочие кардиомиоциты способны передавать управляющие сигналы друг другу. Синусные (пейсмекерные) кардиомиоциты способны автоматически в определенном ритме сменять состояние сокращения на состояние расслабления. Они воспринимают управляющие сигналы от нервных волокон, в ответ на что изменяют ритм сократительной деятельности. Синусные (пейсмекерные) кардиомиоциты передают управляющие сигналы переходным кардиомиоцитам, а последние — проводящим. Проводящие кардиомиоциты образуют цепочки клеток, соединенных своими концами. Первая клетка в цепочке воспринимает управляющие сигналы от синусных кардиомиоцитов и передает их далее — другим проводящим кардиомиоцитам. Клетки, замыкающие цепочку, передают сигнал через переходные кардиомиоциты рабочим.

- Секреторные кардиомиоциты выполняют особую функцию. Они вырабатывают гормон - натрийуретический фактор, участвующий в процессах регуляции мочеобразования и в некоторых других процессах.
- Сократительные кардиомиоциты имеют удлиненную (100 – 150 мкм) форму, близкую к цилиндрической. Их концы соединяются друг с другом, так что цепочки клеток составляют так называемые функциональные волокна (толщиной до 20 мкм). В области контактов клеток образуются так называемые вставочные диски. Кардиомиоциты могут ветвиться и образуют трехмерную сеть. Их поверхности покрыты базальной мембраной, в которую снаружи вплетаются ретикулярные и коллагеновые волокна. Ядро кардиомиоцита (иногда их два) овальное и лежит в центральной части клетки. У полюсов ядра сосредоточены немногочисленные органеллы общего значения. Миофибриллы слабо обособлены друг от друга, могут расщепляться. Их строение аналогично строению миофибрилл миосимпласта скелетного мышечного волокна. От поверхности плазмолеммы в глубь кардиомиоцита направлены Т-трубочки, находящиеся на уровне Z-линии. Их мембраны сближены, контактируют с мембранами гладкой эндоплазматической (т.е. саркоплазматической) сети. Петли последней вытянуты вдоль поверхности миофибрилл и имеют латеральные утолщения (L-системы), формирующие вместе с Т-трубочками триады или диады. В цитоплазме имеются включения гликогена и липидов, особенно много включений миоглобина. Механизм сокращения кардиомиоцитов такой же, как у миосимпласта.

- Кардиомиоциты соединяются друг с другом своими торцевыми концами. Здесь образуются так называемые вставочные диски: эти участки выглядят как тонкие пластинки при увеличении светового микроскопа. Фактически же концы кардиомиоцитов имеют неровную поверхность, поэтому выступы одной клетки входят во впадины другой. Поперечные участки выступов соседних клеток соединены друг с другом интердигитациями и десмосомами. К каждой десмосоме со стороны цитоплазмы подходит миофибрилла, закрепляющаяся концом в десмоплакиновом комплексе. Таким образом, при сокращении тяга одного кардиомиоцита передается другому. Боковые поверхности выступов кардиомиоцитов объединяются нексусами (или щелевыми соединениями). Это создает между ними метаболические связи и обеспечивает синхронность сокращений.
- Возможности регенерации сердечной мышечной ткани. При длительной усиленной работе (например, в условиях постоянно повышенного артериального давления крови) происходит рабочая гипертрофия кардиомиоцитов. Стволовых клеток или клеток-предшественников в сердечной мышечной ткани не обнаружено, поэтому погибающие кардиомиоциты (в частности, при инфаркте миокарда) не восстанавливаются, а замещаются элементами соединительной ткани.
- Регенерация сердечной мышечной ткани. В гистогенезе сердечной мышечной ткани специализированный камбий не возникает. Поэтому регенерация ткани протекает на основе внутриклеточных гиперпластических процессов. Вместе с тем для кардиомиоцитов млекопитающих, приматов и человека характерен процесс полиплоидизации. Например, у обезьян ядра до 50% терминально дифференцированных кардиомиоцитов становятся тетра- и октоплоидными. Полиплоидные кардиомиоциты возникают за счет ацитокинетического митоза, что приводит к многоядерности. В условиях патологии сердечно-сосудистой системы человека (ревматизм, врожденные пороки сердца, инфаркт миокарда и другие) важная роль в компенсации поврежденной сердечной мышечной ткани принадлежит внутриклеточной

ВИДЫ РЕГЕНЕРАЦИИ:



Генная инженерия на пути восстановления кардиомиоцитов

- То, что нервные клетки не восстанавливаются, сегодня знает даже младший школьник. Эта фраза настолько стала обыденной, что ее настоящая суть просто перестала быть значимой.
- Но нервные ли только клетки «не умеют» делиться? Совершенно верно, клетки сердца также не способны к самовоспроизведению! В сердце находится то самое количество кардиомиоцитов, которое было заложено в процессе эмбрионального развития. С возрастом, как считалось ранее, возможна лишь только потеря клеток сердца, но никак не наоборот. В норме, при отсутствии сердечной патологии, эта потеря незначительна и не отражается на работе сердца.
- В случае же возникновения инфаркта миокарда, количество кардиомиоцитов уменьшается резко и в большом объеме. Такая потеря структурно-функциональных единиц немедленно приводит к нарушению функции сердца, снижению кровотока с последующим ухудшением работы других органов. Иными словами, это и есть классический инфаркт миокарда, оставляющий после себя большой след как на всем организме в целом, так и на сердце в частности.
- Такой след на сердце есть ничто иное, как умершая сердечная мышца, на месте которой формируется соединительная ткань, рубец, который мало того, что не участвует в сердечном сокращении, но еще и ослабляет его. На месте постинфарктных рубцов могут возникать разрывы сердца, аневризмы и другие патологические состояния.

- Именно поэтому ученые-кардиологи со всего мира ищут сегодня все возможные методы, препятствующие образованию рубца или, когда он уже сформировался, способы превращения его в нормальную сердечную мышцу. Если предупредить инфаркт сегодня вполне реально и профилактика сердечно сосудистых заболеваний является рутинной для здравоохранения, то восстановление уже утраченного участка сердечной мышцы пока представляет собой какую-то экзотику. Более того, еще пару десятков лет назад это считалось вообще не реальным событием.
- Новые, оптимистичные возможности открывает современной медицине клеточная инженерия, молекулярные технологии. Естественно, с большим успехом данные направления начали использоваться и в кардиологии.
- Совсем недавно учеными из Италии был продемонстрирован экспериментальный метод восстановления сердечной мышцы на месте уже сформированного послеинфарктного рубца. Суть метода заключалась в том, что особые микроРНК эмбрионального кардиомиоцита пересаживали во взрослые клетки сердца, окружающие рубец, а также в фибробласты, способствующие формированию самого рубца путем образования соединительнотканых волокон.
- Почему в качестве исходного материала были взяты эмбриональные клетки? А все дело в том, что именно в этих клетках остается активированным тот генетический материал, который отвечает за деление клеток сердца и его внутриутробное развитие.
- Результаты оказались ошеломляющими: в течении двух месяцев произошло значительное восстановление как нормальной сердечной мышцы на месте бывшего рубца, так и всей функции сердца в целом.

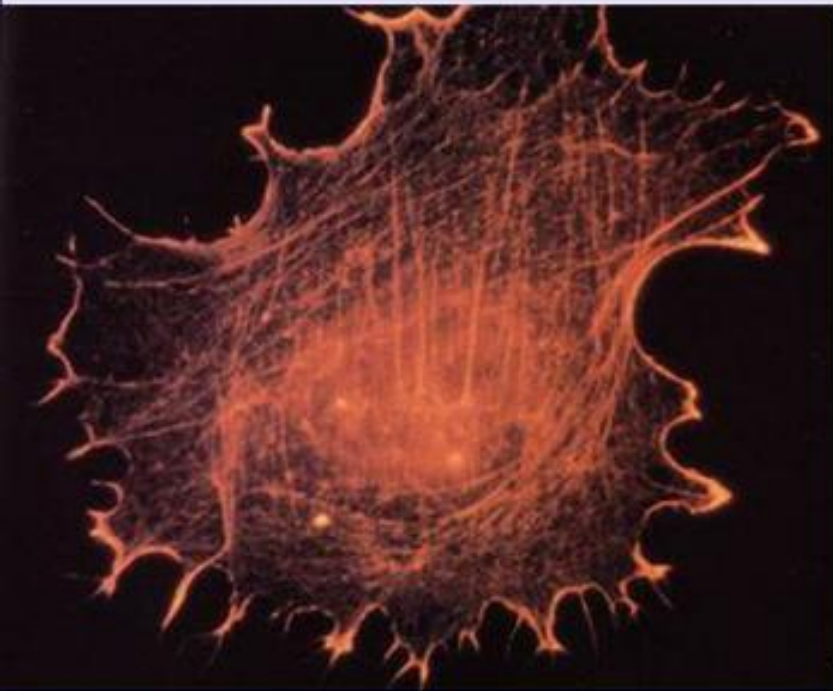
- Да, это лишь экспериментальная работа, это дорогое удовольствие, это метод, требующий особых навыков и знаний, но тем не менее, возможно это наше будущее, которое может подарить надежду пациентам, перенесшим инфаркт миокарда.

Способы клеточной и генной терапии инфаркта миокарда

- За последние 20 лет было разработано несколько способов терапии сердечно-сосудистых заболеваний с использованием генных и клеточных технологий. Основными целями новых методик были: улучшение сократительной функции сердца, уменьшение размеров постинфарктного рубца и предшествующего некроза, улучшение трофики миокарда путем стимуляции неоангиогенеза, предотвращения повторных инфарктов. Для достижения этих целей были использованы различные типы клеток и генных конструкций: собственные изолированные клетки костного мозга [мезенхимальные негематопоетические] [11-13], гематопоетические [14], а также эндотелиальные клетки-предшественники [15, 16], клетки-предшественники, циркулирующие в кровотоке, стромально-сосудистая фракция из подкожной жировой клетчатки [17], скелетные миобласты [миосателлитоциты] [18, 19]. Кроме того, использовали факторы роста, стимулирующие выход предшественников из костного мозга [20]; генные конструкции и факторы, стимулирующие ангиогенез, а также трансформированные клетки, несущие гены ангиогенеза [21]. В данный момент некоторые из описанных способов применения СК в кардиологии находятся на I-II стадиях клинических испытаний.
- Также есть сообщения о том, что сам процесс развития ишемии и формирования рубца в миокарде способствует выходу эндотелиальных предшественников в кровоток в соответствии с повышением уровня G-CSF в крови. На этом основаны первые клинические испытания этого фактора, демонстрирующие его безопасность, однако не свидетельствующие о его эффективности [22], в исследовании также описываются возможные побочные эффекты такой терапии. В процессе также участвует стромальный фактор роста (Stromal-derived factor-1), отвечающий за рекрутирование эндотелиальных предшественников в область ишемии [23]
- Пересадка ген-модифицированных клеток

- Основной целью генотерапевтических подходов является стимуляция ангиогенеза и ограничение зоны постинфарктного рубца. В основном, работы в этом направлении были посвящены введению генных конструкций (плазмид) с последовательностями, кодирующими VEGF - сосудистый эндотелиальный фактор роста и VEGF-R - рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста, а также снижение экспрессии TGF β -трансформирующего ростового фактора- β , стимулирующего формирование рубца [24, 25].
- Трансплантация CD34+ клеток, трансфицированных плазмидой, несущей ген, кодирующий VEGF2, через неделю после экспериментального инфаркта у крыс, вызывала выход ЭПК из КМ и способствовала улучшению васкуляризации пораженного участка. Кроме того, продукт активности гена способствовал выживанию самих клеток, подавляя каспаз-ный путь апоптоза [26].
- Однако введение плазмидного вектора не слишком эффективно, т.к. степень трансфекции клеток миокарда, как правило, не превышает 10% [27]. Одним из выходов можно считать использование аденоассоциированных вирусных переносчиков [28]. Основным препятствием, ограничивающим применение вирусных переносчиков, является частое развитие иммунного ответа на вирусные белки.

Регенерация миокарда
Пример актуального исследования,
проводимого в клеточной лаборатории



Клеточные процессы, связанные с регенерацией миокарда, долгое время считались невозможными.

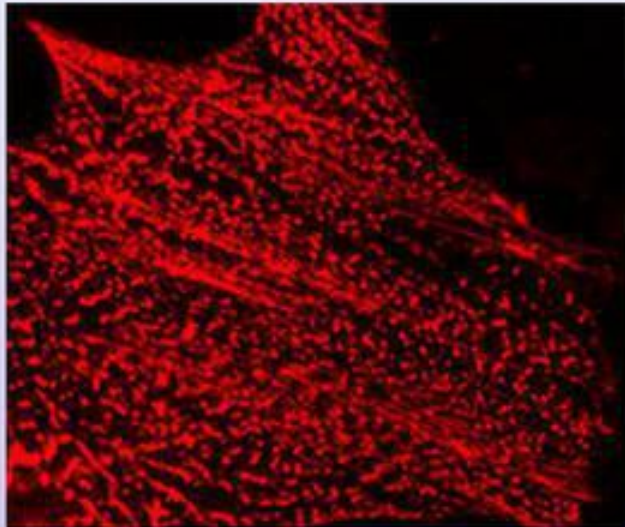
Однако недавно было установлено, что **во всех возрастных периодах сердце содержит пул делящихся малодифференцированных клеток - предшественников кардиомиоцитов.**

В терминальной стадии ХСН, а также при острых состояниях миокарда, например при инфаркте, количество таких клеток значительно увеличивается.

Эти клетки были названы резидентными кардиальными прогениторными клетками и охарактеризованы по экспрессируемым маркерным белкам.

Регенерация миокарда

Пример актуального исследования,
проводимого в клеточной лаборатории



Резидентные прогениторные клетки могут быть лучшими кандидатами для применения в клеточной терапии сердца, так как они являются тканеспецифичными, прекоммитированными и обладают большой способностью к дифференцировке.

Получение резидентных прогениторов кардиомиоцитов из эндомикардиальных биоптатов (ЭМБ) пациентов, их **наращивание и дифференцировка** в культуре дает возможность **вводить эти клетки тем же пациентам**, что поможет избежать побочных эффектов, связанных с использованием неаутологичных клеток.

Дальнейшая дифференцировка этих клеток в зрелые кардиомиоциты могла бы привести к улучшению функциональных характеристик миокарда при развитии хронической сердечной недостаточности.

(Фотографии были любезно предоставлены доктором О.В. Степановой, НИИСК, РКНПК, Москва.)