

DOI: 10.15825/1995-1191-2018-4-89-99

# КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИНТРАМИОКАРДИАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА, ОБРАБОТАННЫХ ЭРИТРОПОЭТИНОМ, В ХИРУРГИИ ИБС (6-МЕСЯЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ)

*А.В. Фомичев, А.М. Чернявский, К.К. Гуляева, О.В. Повещенко, А.П. Лыков,  
Ю.Е. Карева, С.М. Минин, Н.А. Никитин*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр  
имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России,  
Новосибирск, Российская Федерация

**Цель.** Клинико-функциональная оценка эффекта применения трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации в сочетании с имплантацией прекондиционированных эритропоэтином клеток аутологичного костного мозга в хирургии ишемической болезни сердца. **Материалы и методы.** Больные ИБС с диффузным и(или) дистальным поражением правой коронарной артерии ( $n = 60$ ) рандомизированы на две группы: пациентам 1-й группы ( $n = 30$ ) выполнено коронарное шунтирование, с имплантацией прекондиционированных эритропоэтином клеток аутологичного костного мозга в область нижней стенки левого желудочка, пациентам 2-й группы (группа контроля,  $n = 30$ ) выполнено коронарное шунтирование системы левой коронарной артерии. Оценка клинического статуса, перфузии и сократительной способности миокарда выполнена исходно, через 6 месяцев после операции. **Результаты.** Через 6 месяцев после операции выявлено более выраженное снижение функционального класса (ФК) стенокардии (CCS) в основной группе по сравнению с группой контроля, улучшение показателей теста 6-минутной ходьбы. По результатам двухэтапной сцинтиграфии миокарда с технетрилом (Tc99) М в основной группе до хирургического лечения отмечен стойкий дефект перфузии 8,5% [3,5; 18,5], стресс-индуцированный дефект перфузии 7,0% [6,0; 12,3]. В контрольной группе – стабильный дефект 9,1% [5,6; 12,4], стресс-индуцированный дефект перфузии 7,3% [6,1; 8,7]. Через 6 месяцев в основной группе стойкий дефект перфузии составил 6,0% [2,5; 16,5] ( $p = 0,008$ ), стресс-индуцированный дефект – до 4,0% [1,5; 6,3] ( $p = 0,05$ ). В контрольной группе – стабильный дефект 8,7% [5,3; 10,3], стресс-индуцированный дефект перфузии 6,8% [5,3; 9,1] ( $p = 0,21$ ). Результаты сцинтиграфии с MIBG демонстрируют значимое уменьшение площади дефекта иннервации (ПДИ) в сегментах нижней стенки левого желудочка в основной группе: исходно 15,4% [14,2; 16,3], через 6 месяцев 11,7% [9,3; 13,2] ( $p = 0,045$ ). В контрольной группе выявлено недостоверное уменьшение ПДИ: исходно 14,3% [10,2; 17,3], через 6 месяцев 13,8% [9,1; 14,2] ( $p = 0,14$ ). **Заключение.** Исследование продемонстрировало улучшение перфузии в зоне не прямой реваскуляризации, восстановление симпатической иннервации миокарда, лучшие показатели ФК (CCS), теста 6-минутной ходьбы у пациентов в основной группе.

*Ключевые слова:* ишемическая болезнь сердца, стволовые клетки, эритропоэтин.

**Для корреспонденции:** Фомичев Алексей Вячеславович. Адрес: 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская д. 15.  
Тел. 8 (913) 487-29-65. E-mail: a\_fomichev@list.ru

**For correspondence:** Fomichev Alexey Vyacheslavovich. Address: 15, Rechkunovskaya str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation.  
Tel. 8 (913) 487-29-65. E-mail: a\_fomichev@list.ru

# CLINICAL AND FUNCTIONAL EVALUATION OF INTRAMYOCARDIAL IMPLANTATION OF AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS TREATED WITH ERYTHROPOIETIN DURING THE CAD SURGERY (6-MONTH RESULTS)

*A.V. Fomichev, A.M. Chernyavskiy, K.K. Gulyaeva, O.V. Poveschenko, A.P. Lykov, J.E. Kareva, S.M. Minin, N.A. Nikitin*

E.N. Meshalkin National Medical Research Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Novosibirsk, Russian Federation

**Aim.** Clinical and functional evaluation of the implantation of autologous bone marrow cells treated with erythropoietin in laser channels during coronary bypass grafting in patients with end-stage coronary lesion. **Materials and methods.** 60 patients with coronary artery disease with diffuse and (or) distal right coronary artery disease were randomized into two groups: patients of group 1 (n = 30) underwent coronary bypass grafting, implantation of autologous bone marrow cells treated with erythropoietin in laser channels, patients of the 2nd group (n = 30) were operated with coronary bypass grafting of the left coronary artery system. Assessment of the clinical status, myocardial perfusion and contractility was performed initially, 6 months after the operation. **Results.** Six months after the operation, there was a more pronounced decrease in angina pectoris (CCS) in the main group compared to the control group, also we revealed a 6-minute walk test scores improvement. Based on two-stage scintigraphy (Tc99) in the main group before the surgical treatment, a rest perfusion defect was 8.5% [3.5, 18.5], a stress-induced perfusion defect – 7.0% [6.0, 12, 3]. In the control group, the rest defect was 9.1% [5.6, 12.4], the stress-induced perfusion defect was 7.3% [6.1, 8.7]. 6 months after surgery rest perfusion defect at the indirect revascularization group was 6.0% [2.5, 16.5] (p = 0.008), a stress-induced defect was 4.0% [1.5, 6.3] (p = 0.05). In the control group, the rest defect was 8.7% [5.3, 10.3], the stress-induced perfusion defect was 6.8% [5.3, 9.1] (p = 0.21). The results of scintigraphy with MIBG showed a left ventricle innervation defect (PID) significant decrease in the main group: initially 15.4% [14.2, 16.3], after 6 months 11.7% [9.3, 13, 2] (p = 0.045). In the control group, there was an unreliable decrease in PID: initially 14.3% [10.2, 17.3], after 6 months 13.8% [9.1, 14.2] (p = 0.14). **Conclusion.** Our preliminary results revealed more pronounced effect of the new indirect revascularization method expressed as in myocardial perfusion improve, myocardial sympathetic innervation restoration and clinical status improvement in comparison with control group.

*Key words:* coronary artery disease, stem cells, erythropoietin.

## ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются главной причиной смерти населения во всем мире. В то же время в последние десятилетия прошлого века в экономически развитых странах наблюдалось отчетливое снижение смертности от болезней системы кровообращения (БСК), в том числе ишемической болезни сердца (ИБС) [1]. В нашей стране подобная динамика смертности от БСК отмечается лишь в самые последние годы. Самый высокий показатель смертности от БСК в России зарегистрирован в 2003 г. В последующие годы наблюдалось постепенное снижение смертности от БСК, которое в 2011 г. достигло 18,8%. Однако динамика снижения смертности от ИБС была значительно скромнее и составила всего 10%. Следует отметить, что, несмотря на тенденцию, смертность от ИБС в нашей стране превышает аналогичный показатель в США в 3 раза [2].

Распространенность ИБС в нашей стране составляет 13,5%, в США – почти в 2 раза ниже – 7% [2, 3].

По данным Р. Heidenreich и соавт., распространенность ИБС к 2030 г. увеличится на 9,3%, а прямые медицинские затраты возрастут на 198% по сравнению с таковыми в 2010 г. [4]. Таким образом, ИБС остается главной причиной смертности и инвалидизации населения. Очевидно, что сложившаяся ситуация обуславливает необходимость улучшения лечебно-профилактических мероприятий при этом заболевании.

На современном этапе хирургии хронической ишемической болезни сердца основным методом лечения является прямая реваскуляризация миокарда, а именно аортокоронарное шунтирование и чрескожная коронарная ангиопластика со стентированием. По мере накопления опыта оказалось, что в 25–30% случаев диаметр коронарных артерий недостаточен для эффективного шунтирования [5, 6]. Кроме того, часть сосудов подвержена диффузным изменениям на всем протяжении, или же отмечается дистальное поражение коронарного русла, что делает сосуды нешунтабельными.

Таким образом, существует значительная группа больных, для которых выбор традиционных методов прямой реваскуляризации ограничен. К этой же группе относятся пациенты с диффузным поражением интрамуральных ветвей коронарных артерий, а также пациенты, ранее перенесшие операцию прямой реваскуляризации миокарда с плохим результатом [7–9]. Именно эти предпосылки определили развитие альтернативных методов реваскуляризации миокарда.

После проведения ряда крупных исследований эффекта применения моноклеарной фракции костномозгового происхождения с целью ангио- и васкулогенеза, которые продемонстрировали неоднозначные результаты, был начат поиск возможных вариантов повышения эффективности клеток костномозгового происхождения. Одним из направлений работы явилось использование различных факторов роста для прекондиционирования моноклеарных клеток костного мозга. В настоящее время опубликовано множество результатов экспериментальных исследований различных способов прекондиционирования.

Эритропоэтин – гормон, продуцируемый почками, основным эффектом которого является усиление гемопоэза костного мозга. Рецепторы к эритропоэтину найдены в эндотелии сосудов и кардиомиоцитах. Экспериментальные исследования на лабораторных животных показали, что применение эритропоэтина во время ишемии/реперфузии миокарда приводит к ограничению зоны инфаркта и степени апоптоза. В отдаленном периоде применение эритропоэтина может способствовать процессу неогенеза и васкулогенеза либо путем стимулирования эндотелиальных клеток *in situ*, либо путем мобилизации эндотелиальных клеток-предшественников из костного мозга. E. Lipsic и соавт. провели первое рандомизированное клиническое исследование, демонстрирующее безопасность назначения эритропоэтина пациентам с острым инфарктом миокарда [10]. В работе S. Brunners и соавт. назначение эритропоэтина мышам с инфарктом миокарда приводило к потенцированию хоуминга костномозговых клеток-предшественников в ишемизированный участок [11]. M.R. Ward и соавт. показали, что мезенхимальные стволовые клетки, в большей степени секретирующие эритропоэтин, обладают большей способностью к миграции и пролиферации [12]. D. Zhang и соавт. продемонстрировали значительное уменьшение размера инфарктированного миокарда, увеличение плотности капилляров, уменьшение зоны фиброза, уменьшение полости левого желудочка и улучшение сократимости миокарда на модели острого инфаркта миокарда крыс после интрамиокардиальной инъекции мезенхимальных стволовых клеток костномозгового происхождения в сочетании с инфузией

эритропоэтина [13]. Подобные результаты получили J.A. Wang и соавт. [14]. Обнадеживающие экспериментальные данные являются основанием для клинического испытания метода.

**Цель исследования:** клинко-функциональная оценка эффекта применения трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации в сочетании с имплантацией прекондиционированных эритропоэтином клеток аутологичного костного мозга в хирургии ишемической болезни сердца.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стали 60 больных ИБС, которым были определены показания к хирургическому лечению (аортокоронарное шунтирование – АКШ).

### Критерии включения пациентов

1. Возраст 18–80 лет.
2. Диффузное и(или) дистальное поражение правой коронарной артерии, невозможность шунтирования.
3. Наличие в области операции жизнеспособного (гибернированного) миокарда.

### Критерии не включения пациентов

1. Сопутствующая кардиальная патология, требующая хирургической коррекции.
2. Выявление злокачественных опухолей за последние 5 лет.
3. Сосудистые пролиферативные заболевания (диабетическая ретинопатия, артериовенозные мальформации, гемангиомы).
4. ФВ ЛЖ <30%.

Согласно дизайну (рис. 1), после определения показаний к операции методом «конвертов» выполнялась рандомизация пациентов в одну из двух групп: пациентам первой группы (n = 30) выполнялось коронарное шунтирование бассейна левой коронарной артерии, интрамиокардиальная имплантация аутологических клеток костного мозга в лазерные каналы нижней стенки левого желудочка (бассейн кровоснабжения правой коронарной артерии); пациентам второй группы (n = 30, группа контроля) выполнялось только коронарное шунтирование бассейна левой коронарной артерии. Эффективность реваскуляризации оценивалась посредством исследования клинического статуса и данных инструментального обследования исходно, в раннем послеоперационном периоде и через 6 месяцев после операции.

**Клинические параметры:** функциональный класс (ФК) стенокардии (CCS), ФК сердечной недостаточности (NYHA), 6-минутный тест ходьбы, опросник SF-36.

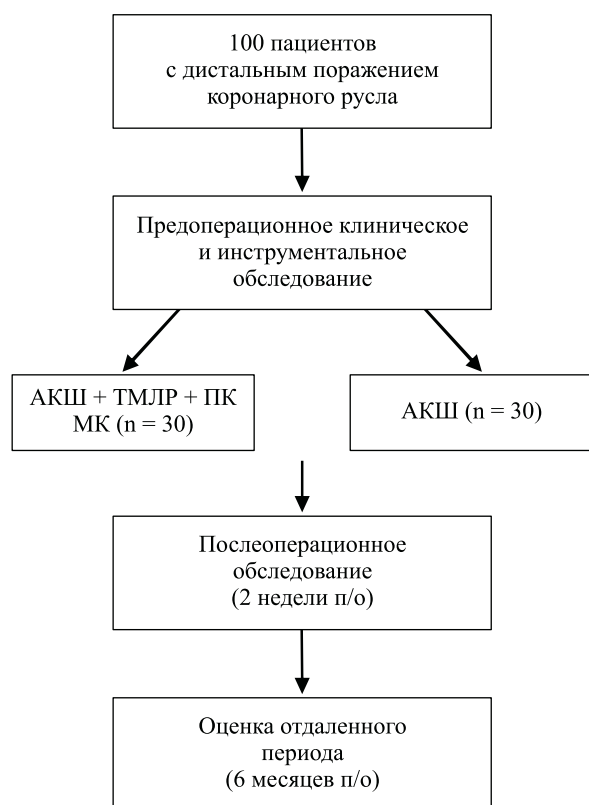


Рис. 1. Дизайн исследования

Fig. 1. Study design

С целью определения ФК стенокардии использована классификация CCS. Согласно классификации CCS, большинство больных имели III функциональный класс стенокардии: в основной группе 78,3% пациентов имели III ФК (CCS), 16,2% – II ФК, 5,4% имели нестабильную стенокардию.

В группе контроля 71,2% пациентов имели III ФК (CCS), 16,6% – II ФК, 3,3% – IV ФК стенокардии, 8,9% – нестабильную стенокардию. По данным анамнеза, 75,1% больных в разные сроки до операции перенесли инфаркт миокарда, подтвержденный клинико-инструментальными методами исследования. Также выполнялась оценка функционального класса сердечной недостаточности по NYHA. Исходно в основной группе 62,1% пациентов имели II ФК (NYHA), 37,9% – III ФК (NYHA). В контрольной группе 56,6% пациентов имели III ФК (NYHA), 40% – II ФК (NYHA), 3,3% – I ФК (NYHA).

**Инструментальные методы:** двухэтапная сцинтиграфия миокарда с  $^{99m}\text{Tc}$ -технетрилом (в покое и нагрузочная); оценка симпатической иннервации миокарда – сцинтиграфия миокарда с MIBG; трансторакальная эхокардиография; тканевая доплерография; МРТ сердца с контрастированием.

Оценку перфузии и функционального состояния миокарда левого желудочка осуществляли по данным ОФЭКТ с  $^{99m}\text{Tc}$ -МИБИ (Технетрил, Диамед) исходно, через 6 месяцев после хирургического ле-

чения. Радионуклидное исследование проводили по протоколу «нагрузка–покой».

По данным зарубежных авторов [15], при оценке функционального состояния и жизнеспособности все большую популярность набирает оценка симпатической иннервации миокарда посредством сцинтиграфии миокарда с 123-labeled meta-iodobenzylguanidine (MIBG). Площадь дефекта иннервации (ПДИ) нижней стенки левого желудочка оценивалась исходно и через 6 месяцев после операции в качестве параметра жизнеспособности миокарда.

Оценку нарушений перфузии и сократительной функции миокарда ЛЖ выполняли в соответствии с актуальными рекомендациями Европейской ассоциации ядерной медицины (EANM). Количественную оценку нарушений перфузии проводили с использованием 17-сегментарной модели ЛЖ и 5-балльной шкалы, где 0 – норма; 1 – сомнительная гипоперфузия; 2 – умеренная гипоперфузия; 3 – выраженная гипоперфузия и 4 – аперфузия. При этом рассчитывали размер дефекта перфузии в покое (SRS) и после стресс-теста (SSS) в процентах (%) как соотношение нарушения перфузии в баллах к сумме баллов во всех 17 сегментах полярной карты. Также определяли размер стресс-индуцированного нарушения перфузии (SDS) как разность между размерами дефектов перфузии после стресс-теста и в покое. Стресс-индуцированное нарушение перфузии устанавливали при улучшении накопления радиофармпрепарата в сегменте миокарда при исследовании в покое, по сравнению с исследованием после стресс-теста. Анализ функционального состояния миокарда левого желудочка включал в себя определение фракции выброса (ФВ).

Одним из основных инструментальных методов исследования явилась эхокардиография (Эхо-КГ). В рамках этого метода уделялось внимание сократительной функции левого желудочка, наличию или отсутствию нарушений локальной сократимости. Также для оценки сократимости, перфузии и жизнеспособности миокарда выполняли МРТ сердца с отсроченным контрастированием, а также тканевую доплерографию. Контрольное обследование пациентов выполнялось в сроки 6 месяцев после операции.

Костный мозг получают пункцией плоских костей, в частности подвздошных костей или грудины за 3–4 часа до имплантации выделенных из костного мозга клеток.

Для забора костного мозга используются одноразовые иглы для трепанобиопсии длиной 100 мм и диаметром 11–15 G с применением одноразового 20-мл шприца. При этом в разовые шприцы заранее добавляют 1 мл физиологического раствора с гепарином, исходя из расчета 50 единиц гепарина на 1 мл получаемого аспирата костного мозга. Заранее рекомендуется иметь 3–4 готовых к использованию



шприца. Аспират забирается в стерильный флакон с 10 мл гепаринизированного физиологического раствора с конечной концентрацией гепарина 50 единиц на 1 мл костного мозга.

### Получение целевых клеток из аутологичного костного мозга

Выделение мононуклеарной фракции производилось в условиях стерильного бокса, все основные манипуляции выполнялись в ламинарном шкафу биологической защиты не менее Па класса защиты, при соответствующей экипировке персонала (стерильные перчатки, хирургические костюмы, маски, шапочки, стерильные халаты, бахилы). Полученный аспират костного мозга разводят физиологическим раствором в соотношении 1:3 и пипеткой или степпером наслаивают в пробирки BD Vacutainer, на градиент плотности фиколл-урографин 1,077 г/мл, либо используют предварительно уже разлитый в стерильные прозрачные полипропиленовые пробирки на 50 мл с закрывающимися крышками типа Falcon. Необходимо соблюдать соотношение раствора градиента к суспензии костного мозга как 1:1–1:2.

Пробирки помещали в термостатированную центрифугу на 30 минут при  $T = 22^\circ\text{C}$  со значением  $g$  (ускорение), равным 400, и центрифугировали. Полученное «интерфазное кольцо» из мононуклеарных клеток пипеткой снимали с градиента, переносили в стерильную 50-мл пробирку типа Falcon с закрывающейся пробкой, но не более 35 мл, добавляли физиологический раствор до 50 мл, центрифугировали 5 минут с ускорением 400  $g$  при  $T = 22^\circ\text{C}$ .

После центрифугирования пипеткой полностью убирали надосадочную жидкость, добавляли 1 мл физиологического раствора, аккуратно ресуспендировали и забирали аликвоту 50 мкл для подсчета клеточного состава и жизнеспособности.

Оставшуюся суспензию клеток доводили до 50 мл физиологическим раствором и центрифугировали 5 минут с ускорением 400  $g$  при  $T = 22^\circ\text{C}$ . Пипеткой полностью убирали надосадочную жидкость. Добавляли 30 мл питательной среды RPMI-1640, ресуспендировали клеточный осадок и переносили в два пластиковых культуральных флакона площадью по 25  $\text{cm}^2$ .

После выполнения основного метода кардиохирургического вмешательства выполняется формирование 5–7 радиально расходящихся из одной точки каналов-депо в участках миокарда, где невозможно провести прямую реваскуляризацию. Далее производится введение взвеси клеток костного мозга, с целью создания замкнутой полости на устье каналов накладывается кисетный шов (рис. 2). Среднее количество введенных клеток составляло около 80 млн. Лазерное излучение осуществляется через кварцевые



Рис. 2. Выполнение транскардиальной лазерной реваскуляризации (ТМЛР): а – устье лазерного канала; б – световод лазера; в – правая коронарная артерия

Fig. 2. Implementation scheme the transmyocardial laser revascularization. Laser channel formation: а – entrance of the laser channel; б – laser lightwire; в – right coronary artery

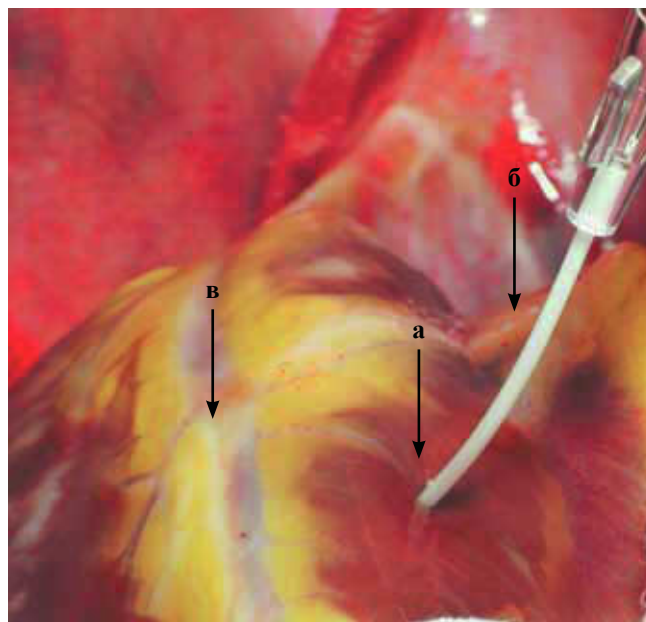


Рис. 3. Имплантация МФ ККМ: а – устье лазерного канала; б – канюля; в – правая коронарная артерия

Fig. 3. Implantation of bone marrow cells: а – entrance of the laser channel; б – cannula; в – right coronary artery

световоды диаметром 0,4 мм в импульсном режиме, мощность 8 Вт, длительность импульса 20 мс, с интервалами 20 мс (рис. 3).

### Статистический анализ

Эмпирические распределения данных исследовались на согласие с законом нормального распределения по критерию Шапиро–Уилка. Исследование выявило ненормальное распределение данных, вследствие чего для проверки гипотез о равенстве

числовых характеристик выборочных распределений в сравниваемых группах использовались непараметрические критерии: непарный U-критерий Манна–Уитни, парный T-критерий Уилкоксона. При сравнении нескольких зависимых выборок применялся критерий ANOVA Friedman.

Статистические дескриптивные характеристики были представлены в виде медианы [первый квартиль; третий квартиль] для числовых данных.

Проверка статистических гипотез проводилась при критическом уровне значимости  $p = 0,05$ , то есть различие считалось статистически значимым, если  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Медиана возраста пациентов в группе непрямого реваскуляризации составила 63 [51; 68] года, в группе контроля – 64 [53; 68] года. Группы по возрасту сопоставимы ( $p = 0,4$ ). Соотношение мужчины/женщины – 27%/73%. Диагноз ишемической болезни сердца был поставлен всем больным при поступлении на основании анамнеза, клиники стенокардии напряжения, объективных дополнительных методов обследования.

Процедура забора аспирата костного мозга переносилась хорошо, постпункционных кровотечений и гематом выявлено не было. Процедура коронарного шунтирования выполнялась в условиях искусственного кровообращения по стандартной технологии. В послеоперационном периоде не выявлено нарушений сердечного ритма и проводимости. На завершающем этапе операции после прекращения окклюзии аорты у всех пациентов отмечалось самостоятельное восстановление сердечной деятельности. Не было

значимой разницы во времени пребывания в палате интенсивной терапии: 22 [19; 24] часа в основной группе и 24 [21; 25] часа – в контрольной ( $p = 0,54$ ).

Смерть на госпитальном этапе зафиксирована у одного пациента из основной группы (периоперационный инфаркт миокарда боковой стенки – не в зоне непрямого реваскуляризации), у одного пациента из группы контроля, также вследствие периоперационного инфаркта миокарда.

При оценке ФК стенокардии (CCS) через 6 месяцев после операции выявлено значимое уменьшение выраженности стенокардии в обеих группах, более выраженное в основной группе ( $p = 0,032$ ): 35,7% пациента имели I ФК (CCS), 64,3% стенокардии не имели. В группе контроля 45,2% пациента имели I ФК (CCS), 54,8% пациентов стенокардии не имели (рис. 4).

При оценке степени выраженности сердечной недостаточности через 6 месяцев также выявили значимое уменьшение ФК (NYHA) в обеих группах (при межгрупповом сравнении разница недостоверна): в основной группе 85% пациентов имели I ФК (NYHA), 15% – II ФК (NYHA) ( $p = 0,042$ ); в контрольной – 81,3% пациентов – I ФК (NYHA), 18,7% – II ФК (NYHA) ( $p = 0,026$ ).

Клиническая эффективность исследуемого метода в отдаленном периоде наблюдения проявляется статистически достоверной положительной динамикой интенсивности боли (BP) на основе SF-36 в обеих группах в сравнении с предоперационными данными. Уровень физической боли, которая влияет на физическую активность и отрицательно сказывается на качестве жизни, значительно снизился, что отразилось в увеличении баллов показателя ин-

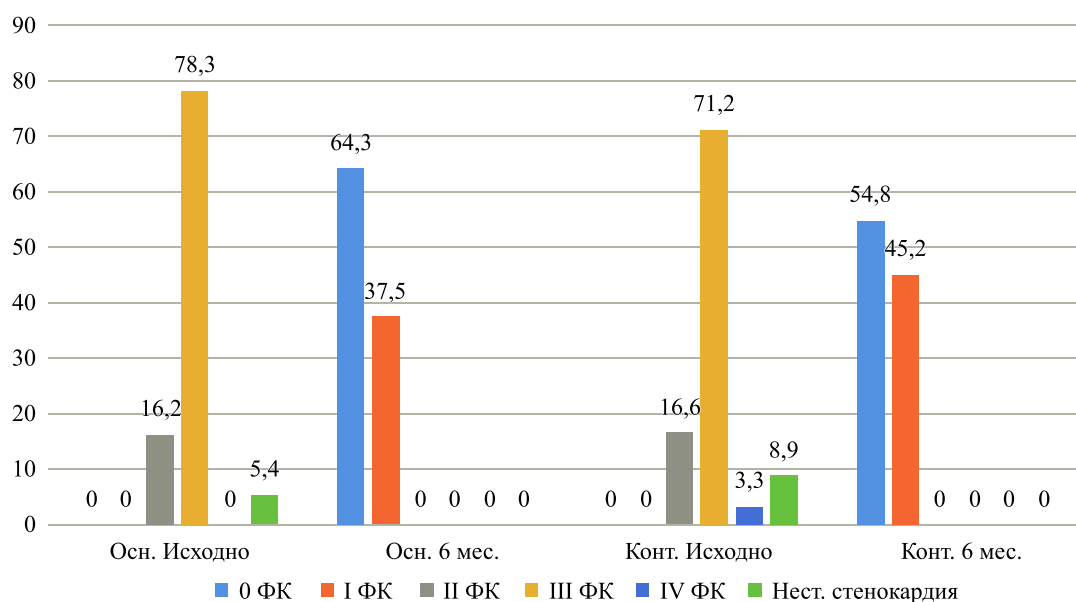


Рис. 4. Оценка ФК стенокардии (CCS), %

Fig. 4. Assessment of angina pectoris (CCS), %

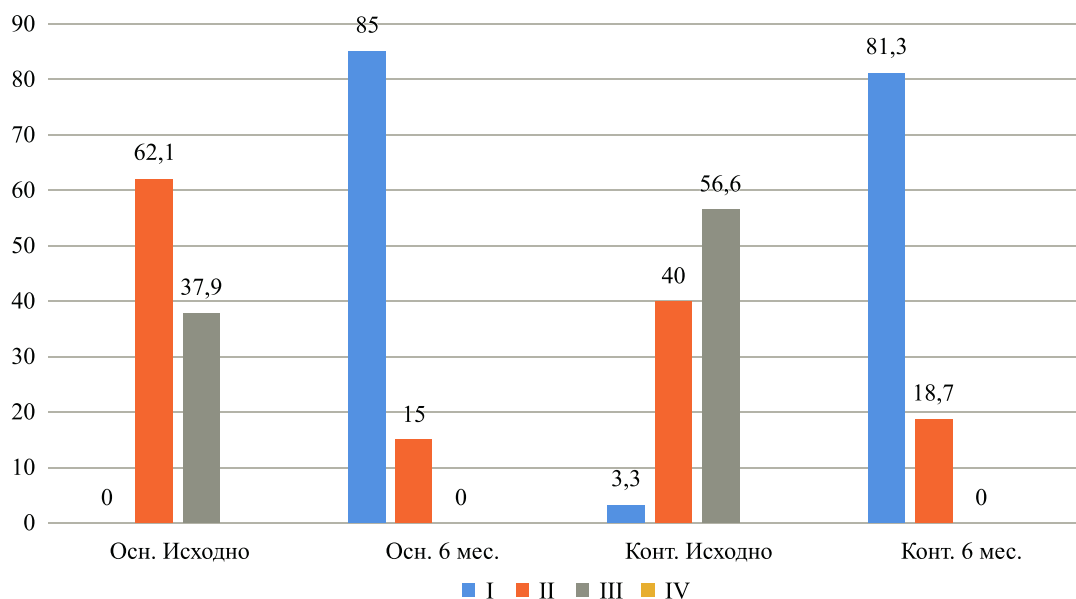


Рис. 5. Оценка сердечной недостаточности ФК (NYHA)

Fig. 5. Heart Failure Assessment (NYHA)

тенсивности боли с 41 [35; 44] до 52 [47; 54] ( $p = 0,01$ ) и с 51 [47; 54] до 64 [59; 67] ( $p = 0,04$ ) в обеих группах. Также в группах отмечается значительное увеличение возможности выполнения физических нагрузок. Показатель физического функционирования в группе непрямого реваскуляризации вырос с 35 до 58 ( $p = 0,03$ ), в контрольной группе – с 47 [42; 51] до 62 [58; 65] ( $p = 0,2$ ). Несмотря на возросшую физическую активность и снижение интенсивности боли, в группах пациенты стали более пессимистично воспринимать предшествующее, настоящее состояние здоровья и его перспективы. Количество баллов в основной группе достоверно снизилось с 72 [57; 77] до 50 [41; 53] ( $p = 0,03$ ), что сопоставимо с данными контрольной группы. Статистически значимой разницы между группами по показателям SF36 не получено.

При анализе теста 6-минутной ходьбы выявлено достоверное увеличение пройденного расстояния в обеих группах, более выраженное в группе непрямого реваскуляризации. В основной группе исходно пройденное расстояние составило 326 [321; 328] метров, через 6 месяцев после операции – 390 [382; 395] метров ( $p = 0,012$ ). Соответствующие показатели в группе контроля: 306 [302; 315], 341 [344; 348] ( $p = 0,001$ ) (рис. 5).

По данным трансторакальной эхокардиографии отмечается тенденция к улучшению функциональных показателей левого желудочка, более значимая в основной группе пациентов: фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) – с 54 [51; 58] исходно до 58 [57; 63] ( $p = 0,041$ ) через 6 месяцев, в контрольной группе – с 58 [52; 63] до 56 [52; 61] через 6 месяцев ( $p = 0,67$ ). Локальная сократимость: в основной группе

выявлено статистически недостоверное уменьшение количества зон гипокинеза нижней стенки через 6 месяцев после операции. В группе контроля также достоверной динамики не получено (рис. 6).

### Тканевая доплерография

При анализе показателей продольной деформации (Strain) нижней стенки левого желудочка (целевой участок миокарда) в основной группе при исходном Strain – 14,7% [14,1; 15,2] выявлено небольшое ухудшение показателей непосредственно после операции (через 2 недели) – до 12,6% [12,1; 12,9], с последующим улучшением показателей до 15,6% [15,2; 15,8] ( $p = 0,04$ ) через 6 месяцев (рис. 7).

В контрольной группе при ухудшении показателей через 2 недели после операции с 16,5% [16,2; 16,8] до 13,06% [12,7; 13,3] через 6 месяцев показатели возвращаются к предоперационным данным: 16,18% [15,7; 16,3]. Анализ индекса деформации нижней стенки Strain rate в обеих группах значимой динамики не выявил.

С целью определения жизнеспособного миокарда пациентам в группе с интрамиокардиальной инъекцией стволовых клеток проводилось магнитно-резонансное исследование сердца с контрастным усилением до хирургического лечения, через 6 месяцев после операции.

При анализе данных МРТ сердца с отсроченным контрастированием рассчитывали показатель нежизнеспособного миокарда (МНМ) в граммах. В ходе исследования были рассчитаны объемы показателей и сократимости миокарда ЛЖ. В ходе наблюдения ФВ ЛЖ статистически значимо возрастала на 6% (с 39%

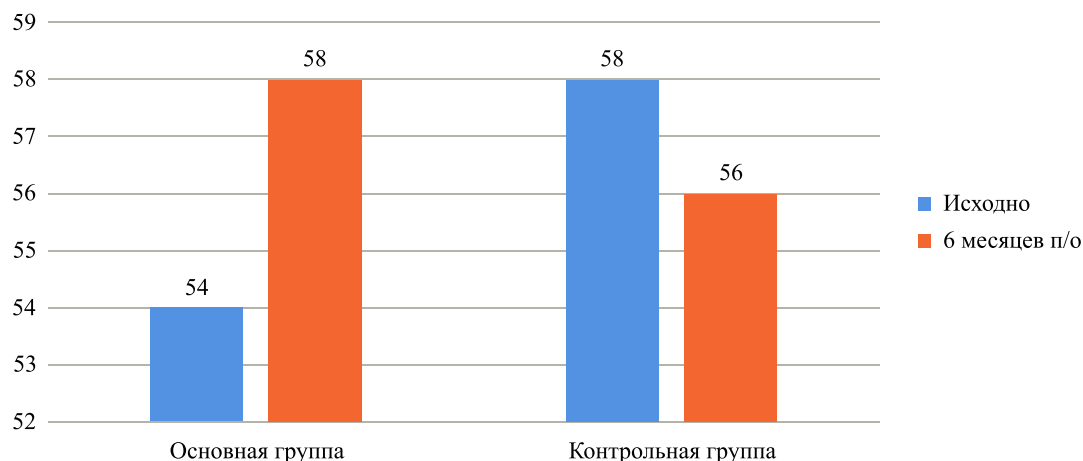


Рис. 6. Динамика фракции выброса левого желудочка в группах (%)

Fig. 6. Left ventricular ejection fraction dynamics in groups (%)

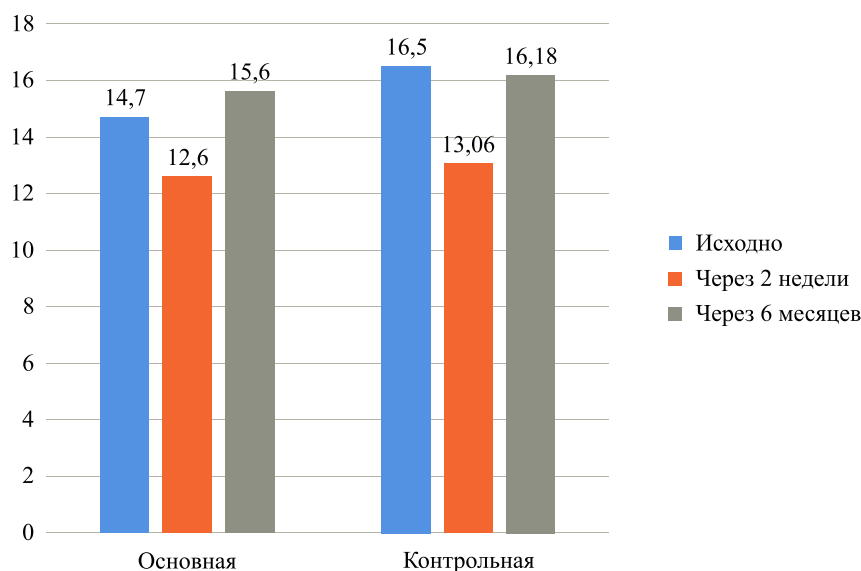


Рис. 7. Динамика показателей тканевой доплерографии (Strain, %)

Fig. 7. Tissue velocity imaging dynamics (Strain, %)

[36; 42] до 45% [35; 49]). Через 6 месяцев наблюдения в группе клеточной терапии отмечалось недостоверное уменьшение абсолютной массы нежизнеспособного миокарда (МНМ) на 4 г и относительная МНМ снизилась также недостоверно на 5% (с 45% [37; 51] до 40% [34; 48]) по сравнению с дооперационными значениями. В группе контроля достоверной динамики также выявлено не было. В предварительном исследовании мы не получили достоверной разницы между показателями до операции и через 6 мес.

Вместе с тем у всех обследуемых больных наблюдалась положительная динамика со стороны функциональных показателей, а также уменьшение степени захвата контрастного вещества, что может свидетельствовать о наличии минимально выраженного ангиогенеза. Стоит отметить, что в настоящее время идет набор материала по результатам МРТ

сердца и представленные результаты являются предварительными.

По результатам двухэтапной сцинтиграфии миокарда с технетрилом (Tc99) до хирургического лечения средняя величина стойкого дефекта перфузии в группе непрямого реваскуляризации составила 8,5% [3,5; 18,5] площади миокарда нижней стенки левого желудочка, что указывает на наличие в миокарде левого желудочка зон постинфарктного кардиосклероза. Наряду с этим средняя величина стресс-индуцированного дефекта перфузии до операции составляла 7,0% [6,0; 12,3] площади миокарда нижней стенки левого желудочка. Через 6 месяцев после хирургического вмешательства наблюдалось значимое улучшение миокардиальной перфузии, при этом имело место уменьшение величины как стойких дефектов перфузии, которые уменьшились в среднем до 6,0%



[2,5; 16,5] ( $p = 0,008$ ), так и стресс-индуцированных дефектов – до 4,0% [1,5; 6,3] ( $p = 0,05$ ).

В контрольной группе через 6 месяцев значимой динамики перфузии нижней стенки ЛЖ не выявлено: стабильный дефект 9,1% [5,6; 12,4] исходно, 8,7% [5,3; 10,3] через 6 месяцев. Преходящий дефект 7,3% [6,1; 8,7] исходно, 6,8% [5,3; 9,1] через 6 месяцев ( $p = 0,21$ ) (рис. 8).

Состояние симпатической активности (иннервации) миокарда оценивали через 4 часа после внутривенного введения  $^{123}\text{I}$ -МИБГ.

Региональную симпатическую иннервацию определяли по площади дефекта накопления радио-

фармпрепарата в сегментах нижней стенки левого желудочка, если таковой имел место.

Площадь дефекта иннервации (ПДИ), отражающую распространенность нарушения симпатической активности, рассчитывали в процентах от площади миокарда левого желудочка (рис. 9).

Предварительные результаты сцинтиграфии с МИБГ демонстрируют значимое уменьшение (ПДИ) в сегментах нижней стенки левого желудочка в основной группе через 6 месяцев после операции: с 15,4% [14,2; 16,3] до 11,7% [9,3; 13,2] ( $p = 0,045$ ). В контрольной группе выявлено недостоверное

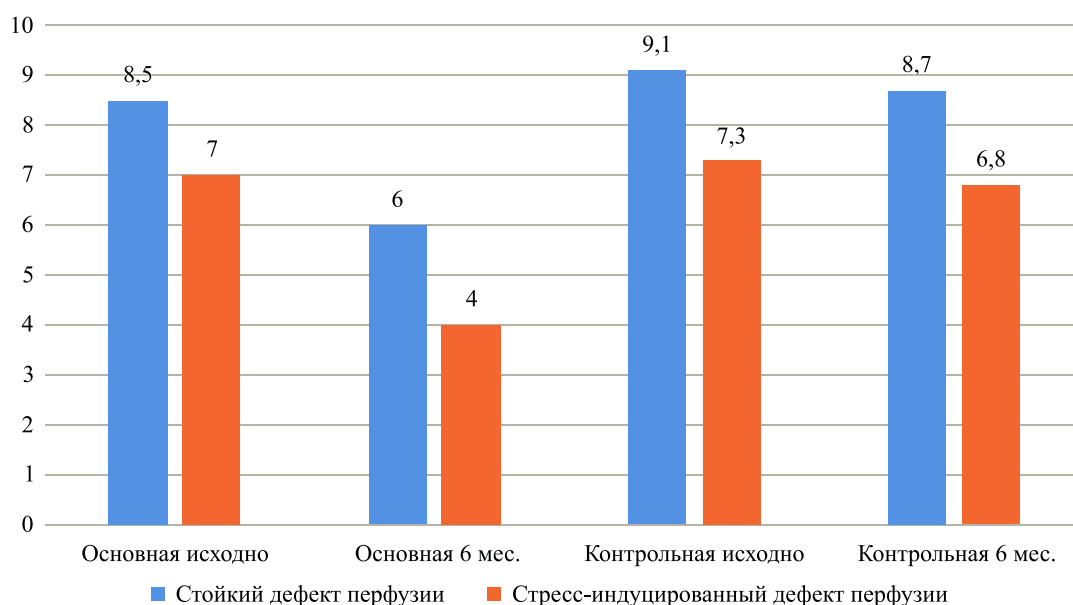


Рис. 8. Изменения перфузии миокарда нижней стенки левого желудочка по данным двухэтапной сцинтиграфии с  $\text{Tc}$  (%)

Fig. 8. Myocardial perfusion scintigraphy dynamics

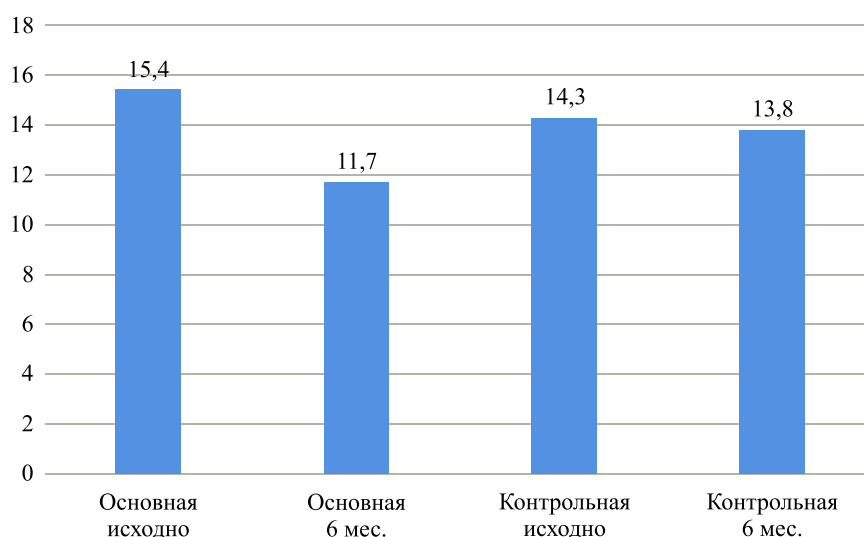


Рис. 9. Динамика площади дефекта иннервации по данным сцинтиграфии миокарда с МИБГ в группах (%)

Fig. 9. Myocardial sympathetic innervation defect dynamics based on scintigraphy with MIBG in study groups (%)

уменьшение ПДИ: 14,3% [10,2; 17,3] исходно, 13,8% [9,1; 14,2] через 6 месяцев ( $p = 0,14$ ).

Таким образом, имеющиеся данные позволяют сделать вывод об эффективности исследуемого метода в отношении оптимизации перфузии и функционального состояния миокарда, а также качества жизни пациентов по сравнению с группой контроля.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие технологий непрямой реваскуляризации миокарда является предметом изучения на протяжении многих лет. Попытки создать альтернативный источник кровоснабжения миокарда начинались формированием асептического воспаления (операция Мыша), механическим туннелированием миокарда (Ишенин), затем были продолжены лазерными и клеточными технологиями. Несмотря на множество методик непрямой реваскуляризации, включая использование различных типов лазеров, различных типов и способов введения стволовых клеток, к сожалению, ни одна из них не была внедрена в рутинную практику сердечно-сосудистой хирургии.

Однако изучение способностей стволовых клеток при различной патологии продолжается и по сей день, и следующим этапом развития клеточных технологий является использование различных факторов роста для повышения эффективности клеток-предшественников [16].

Использование препаратов эритропоэтина для обработки клеток костномозгового происхождения в эксперименте продемонстрировало многообещающие результаты – качественно изменялся состав клеток, повышалась устойчивость клеток к гипоксии и жизнеспособность [17].

Экспериментальные данные явились причиной для клинического испытания технологии, промежуточные результаты которого продемонстрировали эффективность метода в отношении оптимизации перфузии и функционального состояния миокарда, а также качества жизни пациентов по сравнению с группой контроля.

Анализ доступной литературы не выявил опубликованных случаев использования подобных технологий в клинике.

Одно из наиболее интересных экспериментальных сообщений – D. Zhang и соавт. продемонстрировали значительное уменьшение размера инфарцированного миокарда, увеличение плотности капилляров, уменьшение зоны фиброза, уменьшение полости левого желудочка и улучшение сократимости миокарда на модели острого инфаркта миокарда крыс после интрамиокардиальной инъекции мезенхимальных стволовых клеток костномозгового происхождения в сочетании с инфузией эритропоэтина [13].

Copland et al. продемонстрировали, что ретровирусная трансдукция мышей MSC с эритропоэтином (Еро-MSC) 30 улучшает их регенеративную функцию через аутокринный и паракринный механизмы [18].

Они показали, что мезенхимальные стволовые клетки обычно не производят эритропоэтин, но экспрессируют рецептор (ЕроR), который активирует сигнальные каскады (Jak2 и Erk1/2) в ответ на повышение дозы эритропоэтина *in vitro*. Они полагают, что сверхэкспрессия эритропоэтина создает «аутокринную петлю» в трансдуцированных мезенхимальных клетках, которые являются более устойчивыми к апоптозу. На модели инфаркта миокарда мыши инъекция Еро-MSCs в пограничную зону инфаркта привела к улучшению ремоделирования левого желудочка (ЛЖ), сократительной способности миокарда по сравнению с использованием MSC. В Эпо-MSCs-группе наблюдалась неоваскуляризация миокарда и уменьшение выраженности лейкоцитарной инфильтрации.

Несомненно, доказанное двойное действие эритропоэтина (ауто- и паракринное) делает его использование многообещающим. Системный эффект эритропоэтина все еще изучается (улучшение оксигенации периинфарктной зоны). Эритропоэтин также способен мобилизовать проангиогенные клетки-предшественники эндотелия из костного мозга, что может способствовать неоангиогенезу в миокарде. В этой связи интересным выглядит сравнение системного применения эритропоэтина и локальной обработки клеток.

Наше исследование продемонстрировало улучшение перфузии в зоне непрямой реваскуляризации, а также восстановление симпатической иннервации миокарда, что можно считать одним из признаков жизнеспособности миокарда. Данные МРТ с отсроченным контрастированием подтвердили некоторое улучшение функции левого желудочка, однако не показали улучшения показателей МНМ. Также мы не получили убедительной динамики параметров тканевой доплерографии. Клинически группа непрямой реваскуляризации продемонстрировала лучшие показатели ФК (CCS), теста 6-минутной ходьбы.

Имеет место определенная несогласованность данных, например, при улучшении жизнеспособности миокарда нижней стенки левого желудочка по данным скintiграфии с MIBG стоит ожидать уменьшения МНМ по данным МРТ, а также улучшения показателей тканевого доплера. Интерпретация клинических результатов затруднена отсутствием подобных публикаций. Стоит отметить, что окончательные выводы будут сделаны по завершении набора материала по результатам 12-месячного обследования.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, имеющиеся данные позволяют сделать вывод об эффективности исследуемого метода в отношении оптимизации перфузии и функционального состояния миокарда, а также качества жизни пациентов по сравнению с группой контроля. Однако остался ряд вопросов о влиянии исследуемого метода на жизнеспособность миокарда в зоне воздействия, что не получило однозначного подтверждения по данным МРТ и тканевой доплерографии. Анализ результатов обследования после набора материала позволит сделать окончательные выводы.

*Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект 16-15-00057).*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ford ES, Ajani UA, Croft JB et al. Explanation of decrease in US deaths from coronary heart disease, 1980–2000. *N Engl J Med.* 2007; 356: 2388–2398.
2. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM et al. Heart disease and stroke statistics 2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2012; 124: e2–e220.
3. Мареев ВЮ, Фомин ИВ, Агеев ФТ, Беграмбекова ЮЛ, Васюк ЮА, Гарганеева АА и др. Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение. *Кардиология.* 2018; 58 (S6): 8–164. Mareev VYu, Fomin IV, Ageev FT, Begrambekova YuL, Vasyuk YuA, Garganeeva AA i dr. Klinicheskie rekomendacii OSSN – RKO – RN MOT. Serdechnaya nedostatochnost': hronicheskaya (HSN) i ostraya dekompensovannaya (ODSN). Diagnostika, profilaktika i lechenie. *Kardiologiya.* 2018; 58 (S6): 8–164.
4. Heidenreich PA, Trogdon JG, Khavjou OA et al. Forecasting the Future of Cardiovascular Disease in the United States A Policy Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2011; 123: 933–944.
5. Бураковский ВИ. Сердечно-сосудистая хирургия. 1989; 752. Burakovsky VI. Cardiovascular Surgery. 1989; 752.
6. Effler DB. Acute coronary insufficiency (impending myocardial infarction and myocardial infarction): surgical treatment by the saphenous vein graft technique. *Am J Cardiol.* 1971 Nov; 28 (5): 598–607.
7. Бокерия ЛА. Минимально инвазивная хирургия сердца. М.: Медицина, 1998: 92. Bokeria LA. Minimally invasive surgery of the heart. M.: Medicine, 1998: 92.
8. Salomon NW, Page US, Bigelow JC et al. Reoperative coronary surgery. Comparative analysis of 6591 patients undergoing primary bypass and 508 patients undergoing reoperative coronary artery bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990; 100: 250–260.
9. Vincent J, Bardos P, Kruse J, Maass D. End stage coronary disease treated with the transmyocardial CO<sub>2</sub> laser revascularization: A chance for the «inoperable» patient. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1997; 11: 888–894.
10. Lipsic E, Schoemaker RG, van der Meer P et al. Protective effects of erythropoietin in cardiac ischemia: from bench to bedside. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Dec 5; 48 (11): 2161–2167.
11. Brunner S, Winogradov J, Huber BC et al. Erythropoietin administration after myocardial infarction in mice attenuates ischemic cardiomyopathy associated with enhanced homing of bone marrow-derived progenitor cells via the CXCR-4/SDF-1 axis. *FASEB J.* 2009 Feb; 23 (2): 351–361. doi: 10.1096/fj.08-109462.
12. Ward MR, Stewart DJ. Erythropoietin and mesenchymal stromal cells in angiogenesis and myocardial regeneration: one plus one equals three. *Cardiovasc Res.* 2008 Aug 1; 79 (3): 357–359. doi: 10.1093/cvr/cvn153.
13. Zhang DGI, Zhang FM, Zhang YQ et al. Erythropoietin enhances the therapy potency of autologous bone marrow stromal cells in a rat heart infarction model via phosphatidylinositol-3-kinase/Akt pathway]. *Cardiology.* 2007; 108 (4): 228–236.
14. Wang JA, Xie XJ, He H, Sun Y, Jiang J et al. A prospective, randomized, controlled trial of autologous mesenchymal stem cells transplantation for dilated cardiomyopathy. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* 2006 Feb; 34 (2): 107–110.
15. Jan van Ramshorst, Saskia LMA Beeres, Sander F. Rodrigo, Petra Dibbets-Schneider et al. Effect of intramyocardial bone marrow-derived mononuclear cell injection on cardiac sympathetic innervation in patients with chronic myocardial ischemia. *The International Journal of Cardiovascular Imaging.* 2014 March; 30, Issue 3: 583–589.
16. Гичкун ОЕ, Ярошенко ЕБ, Шевченко АО. Трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток пациентам с рассеянным склерозом. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук.* 2016; 2: 110–117. Gichkun OE, Yaroshenko EB, Shevchenko AO. Transplantaciya autologichnyh gemopoeticheskikh stvolovyh kletok pacientam s rasseyannym sklerozom. *Vesci Nacyyanal'nej akadehmii navuk Belarusi. Seryya medycynskih navuk.* 2016; 2: 110–117.
17. Lykov AP, Poveshchenko OV, Cherniavsky AM et al. Phenotype of bone-marrow mononuclear cells before and after short-time precondition with erythropoietin from patients with ischemic heart failure. *Russian Open Medical Journal.* 2018; 7, Issue 2. DOI: 10.15275/rusomj.2018.0202.
18. Copland IB, Jolicoeur EM, Gillis MA, Cuerquis J, Eliopoulos N, Annabi B, Calderone A et al. Coupling erythropoietin secretion to mesenchymal stromal cells enhances their regenerative properties. *Cardiovasc Res.* 2008 Aug 1; 79 (3): 405–415. doi: 10.1093/cvr/cvn090.

*Статья поступила в редакцию 21.06.2018 г.  
The article was submitted to the journal on 21.06.2018*