

Анализ индивидуальных уровней клеток с фенотипом гемопоэтических (CD34) и мезенхимальных (CD133) стволовых клеток показал постоянное присутствие этих клеток в костно-мозговом трансплантате как до, так и после культивирования. Содержание CD34+CD45+-клеток до культивирования составляло 0,8–5,7%, после культивирования АуККМ – 1–2,4%, содержание CD133+CD45+-клеток до культивирования – 0,2%, после культивирования – 0,9%.

Отмечалась и постоянная продукция мононуклеарами костного мозга IL3 – фактора роста стволовых клеток: 18–20 пг/мл – до и 20–25 пг/мл – после 7-дневного культивирования, что свидетельствовало о функциональной активности этой фракции

клеток. После культивирования (перед трансплантацией) восстанавливалась способность АуККМ отвечать на стимуляцию ФГА и ЛПС продукцией ростовых факторов (TGFβ2 до – 169 пг/мл, после – 226 пг/мл; G-CSF до – 95 пг/мл, после – 135 пг/мл). Продукция TGFβ2 и G-CSF у больных с положительным клиническим эффектом АуККМ была в 2–3 раза выше, чем при отсутствии эффекта.

Таким образом, анализ иммунофенотипических и цитокиновых параметров подтвердил жизнеспособность и функциональную активность АуККМ, что позволяет использовать их для клеточной трансплантации и прогноза ее эффективности у кардиологических больных.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ИБС И ДКМП

*Немков А.С., Седов В.М., Афанасьев Б.В., Фрегатова Л.М., Зверев О.Г., Белый С.А., Шлойдо Е.А., Нестерко А.О., Юдина О.В., Рыжкова Д.В., Зуева Е.Е., Петров Н.В., Стовпюк О.Ф., Цурупа С.П.*

СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, ЦНИРРИ, ГМПБ № 2

### CLINICAL APPLICATION OF AUTOLOGOUS BONE MARROW STEM CELLS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE AND DILATED CARDIOMYOPATHY

*Nemkov A.S., Sedov V.M., Afanasyev B.V., Fregatova L.M., Zverev O.G., Belyj S.A., Shlojdo E.A., Nesterko A.O., Yudina O.V., Ryzhkova D.V., Zueva E.E., Petrov N.V., Stovpiuk O.F., Tsurupa S.P.*

#### Материал и методы

В период с июня 2003 по март 2005 гг. стволовые клетки в виде аутологичных мононуклеаров костного мозга (АМКМ) применены у 56 больных. 50 больных страдали ишемической болезнью сердца (ИБС), 6 больных – дилатационной кардиомиопатией (ДКМП).

Из 56 больных у 7 интрамиокардиальное введение АМКМ выполнено во время операции аортокоронарного шунтирования (от 3 до 5 дистальных анастомозов, включая маммарокоронарный анастомоз), в том числе у 3 больных дополнительно выполнена резекция аневризмы левого желудочка.

У одного больного катетерное интракоронарное введение АМКМ проведено сразу после эндоваскулярной операции – баллонной коронарной ангиопластики и стентирования передней межжелудочковой артерии.

Остальным больным (48) стволовые клетки в виде АМКМ вводились через катетер во время коронарографии как отдельная процедура на фоне стабильного лечения традиционными медикаментозными препаратами. 11 больным из этой группы ранее были выполнены операции аорто- и маммарокоронарного шунтирования, однако рецидив стенокардии потребовал провести контрольную коронарошунтографию. При шунтографии выявлено,

что из 3–5 шунтов функционирует 1–2 (как правило, работает маммарокоронарный анастомоз). В этой группе больных выполнить ангиопластику шунтов или нативных артерий было невозможно, а повторная операция аортокоронарного шунтирования была не показана из-за выраженного дистального поражения коронарного русла.

Больным ДКМП (5 больных), помимо интракоронарного введения АМКМ, проводилась традиционная консервативная терапия.

Следует отметить, что медикаментозная терапия, подобранная за месяц до начала клеточной терапии, не менялась в течение всего срока наблюдения ни по качеству, ни по количеству. Для терапии применяли нитраты, бета-блокаторы, верошпирон (в качестве антагониста альдостерона), мочегонные, дезагреганты (аспирин), препараты калия.

Получение взвеси мононуклеаров осуществляли следующим образом: пункцию грудины и подвздошной кости выполняли под внутривенным наркозом диприваном, в целом получали 120 мл костного мозга, для профилактики тромбообразования использовали гепарин. Затем проводили седиментацию с 6% гидроксиэтилкрахмалом, центрифугировали 20 мин при температуре 24 °С со скоростью 2000 об/мин. Выделение мононуклеарной фракции

костного мозга осуществляли в замкнутой системе трех соединенных между собой мешков для сбора крови (Terumo).

Всем больным проводили суточное ЭКГ-мониторирование, нагрузочный тест с 6-минутной ходьбой, эхокардиографию на аппарате «Sonos 1500» (HP, USA), коронарографию, однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ) с технетрилом или позитронную эмиссионную томографию (ПЭТ) для оценки перфузии и метаболизма миокарда. Количество стволовых клеток костного мозга определяли методом проточной цитофлуориметрии двухплатформенным методом по относительному содержанию CD34+ -клеток с помощью протокола ISHADE.

### Результаты

Отчетливый положительный эффект, полученный у больных, которым выполнена операция прямой реваскуляризации миокарда в сочетании с введением АМКМ, не позволяет уверенно отличить полезный эффект, полученный за счет коронарного шунтирования, от эффекта клеточной терапии. В этом отношении наиболее интересна группа больных, которым интракоронарное введение АМКМ проведено как отдельная лечебная процедура (48 человек). Срок наблюдения – до 18 месяцев.

Клинически улучшение самочувствия отметили все больные. Уменьшение сердечной недостаточности и (или) коронарной недостаточности на 1–2 степени отмечено в течение первых 2–3–6 месяцев после инфузии АМКМ, что нашло подтверждение при контрольном проведении нагрузочного теста с 6-минутной ходьбой.

При эхокардиографии в среднем глобальная фракция изгнания левого желудочка увеличилась на  $12 \pm 6\%$ . Отмечено уменьшение конечного диастолического и конечного систолического объемов левого желудочка.

ОФЭКТ подтвердила отчетливое уменьшение зон гипоперфузии миокарда в сроки 3 и 6 мес. Данные в 12 мес. незначительно отличаются от состоя-

ния перфузии миокарда за 6 мес. в положительную сторону.

При позитронной эмиссионной томографии миокарда отмечено улучшение перфузии и метаболизма миокарда через 3–6 мес. после введения АМКМ.

Оценка АМКМ: в среднем каждому больному было введено  $4,7-10 \times 10^8$  ядросодержащих клеток, из них  $1,2-1,8 \times 10^8$  (12–24%) моноклеаров и  $1,5-3 \times 10^6$  (1,3–2,5%) клеток CD34+.

Изменений клинических или биохимических анализов крови в ближайшем послеоперационном периоде не отмечено. Летальных исходов не было.

Изменения на ЭКГ имели место только в момент введения взвеси моноклеаров в коронарное русло в виде кратковременной инверсии Т-волны. В двух случаях имели место более длительные эпизоды ишемии на ЭКГ, сопровождавшиеся стенокардией, они купированы введением нитратов. У двух пациентов через 2–2,5 мес. после операции АКШ и введения АМКМ имело место учащение наджелудочковой и желудочковой экстрасистолии, потребовавшей назначения кордарона. К 6 мес. после инфузии АМКМ экстрасистолия вернулась к дооперационному уровню. Подобные нарушения ритма сердца в дальнейшем не рецидивировали и у других пациентов не встречались.

### Заключение

Выявленная возможность применения аутологичных стволовых клеток в виде АМКМ и доказательство улучшения перфузии миокарда и метаболизма при их интрамиокардиальном или интракоронарном введении дают возможность использовать данный метод лечения не только в целях коррекции сердечной недостаточности, но и лечения коронарной недостаточности у больных с дистальным поражением коронарного русла.

Следует подчеркнуть, что наибольший эффект достигнут в тех случаях, когда имел место рецидив стенокардии при сохранной работе, по крайней мере, одного из ранее наложенных шунтов или при дистальной форме поражения коронарных артерий.