

© Коллектив авторов, 2011  
УДК 616.132-007.071-08:616.419

С.Н. Бурнос, А.С. Немков, С.А. Белый, В.И. Лукашенко

## ФРАКЦИЯ ВЫБРОСА И РАЗМЕРЫ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА ПОСЛЕ ИНТРАКОРОНАРНОГО ВВЕДЕНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА СО СНИЖЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА

Кафедра факультетской хирургии (зав. — проф. В.М. Седов) ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздравсоцразвития РФ

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, мононуклеарные клетки костного мозга, фракция выброса левого желудочка.

**Введение.** Имеется значительный опыт стимуляции ангиогенеза посредством аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга для лечения больных с ишемической болезнью сердца [1]. Введение мононуклеарной фракции костного мозга (МНКМ) осуществлялось интракоронарно в сочетании с ангиопластикой и стентированием коронарных артерий [5, 8]. Положительный эффект в виде улучшения показателей фракции выброса (ФВ), диастолического и систолического размеров левого желудочка был выражен [3, 4]. Осталось неясным, зависит эффект лишь от применения мононуклеаров костного мозга или обусловлен также ангиопластикой со стентированием коронарных артерий.

**Материал и методы.** В исследование включены больные мужского и женского пола от 18 до 80 лет. Обязательным было наличие у пациентов с ишемической болезнью сердца со стенокардией напряжения III–IV функционального класса (ФК) или ишемической кардиомиопатии. Также в исследование включали больных, которым невозможно было выполнить традиционное оперативное лечение из-за диффузного или дистального поражения атеросклерозом венечных артерий, или из-за диффузной гипокинезии миокарда с выраженным снижением фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ), или из-за других хронических заболеваний, препятствующих оперативному лечению. В исследование не включали больных: старше 80 лет, имеющих непереносимость гепарина и гидроксизилкрахмала, сопутствующую патологию, ограничивающую продолжительность жизни до 3 лет, гипотиреоз или гипертиреоз, очаги инфекции или участвующих в другом исследовании.

С 2003 г. в исследовании приняли участие 119 больных с ишемической болезнью сердца в основной группе и 37 — в

контрольной. При этом в основной группе пациентов разделили на 2 подгруппы: 1) больные, которым введение МНКМ выполнялось как самостоятельная процедура (97 человек); 2) 22 человека, которым введение МНКМ выполнялось с оперативным лечением. В контрольной группе все больные после проявления стенокардии получали только консерва-

Таблица 1

Общая характеристика больных (M±m)

Показатели	Группа больных, получивших МНКМ	Контрольная группа
Всего больных	119	37
Мужчины	106 (89%)	32 (87%)
Женщины	13 (11%)	5 (13%)
Возраст, лет	58,1±7,9	55,5±7,8
Инфаркт миокарда	1,52±0,93	1,08±0,91
Сердечная недостаточность (ФК, NYHA)	2,41±0,61	1,59±1,19
Стенокардия напряжения (ФК, CCS)	2,75±0,59	2,19±0,68
Гипертоническая болезнь	2,48±0,5	2,30±0,47
Фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ)	48,1±12,7	57,1±12,3
Диастолический размер левого желудочка (ЛЖДР)	60,3±9,26	52,1±9,4
Систолический размер левого желудочка (ЛЖСР)	44,7±10,8	35,9±9,9
Уровень общего холестерина в крови, ммоль/л	4,77±1,16	5,61±1,16
Уровень глюкозы крови, ммоль/л	5,59±1,10	5,11±0,92
Мерцательная аритмия	6 (5%)	3 (8%)
ИБС	9 (8%)	5 (13%)
ОАЧНК	8 (7%)	2 (5%)

Таблица 2

**Динамика медианы фракции выброса левого желудочка (%) после введения моноклеарных клеток костного мозга у больных со снижением фракции выброса**

Месяцы	Число больных	ФВ до трансплантации МНКМ		ФВ после трансплантации МНКМ		Разность медианы (%)	p
		медиана	интервал	медиана	интервал		
6	17	40	25–48	41	25–55	1	0,033
12	19	40	25–49	42	26–68	2	0,004
24	15	38	25–47	45	29–60	7	0,003
36	8	37,5	25–47	45,5	38–64	8	0,028
48	7	36	29–45	48	28–56	12	0,052
60	5	36	33–41	45	38–63	9	0,043
72	3	33	32–36	56	37–58	23	0,109

тивное лечение. Кроме того, в основной группе исходное значение фракции выброса было снижено у 53 пациентов, а в контрольной — у 11. Общая характеристика пациентов в обеих группах представлена в табл. 1.

Эхокардиографию всем пациентам выполняли до введения моноклеарных клеток костного мозга, а затем через 6, 12, 24, 36, 48, 60 и 72 мес после введения на аппарате «Vivid 7, GE Medical System».

Всем больным, включенным в исследование по вышеописанным критериям, после соответствующего обследования в условиях общей анестезии диприваном в операционной выполняли эксфузию костного мозга в объеме 240 мл из грудины и гребней подвздошных костей в пакеты для консервации крови «TERUFLEX 450/400» (Terumo). Для стабилизации взвеси костного мозга использовали раствор гепарина (50 ЕД на 1 мл) в соотношении гепарин: костный мозг — 1:3. Затем для получения моноклеарной взвеси выполняли седиментацию с помощью гидроксипропилкрахмала и последующим градиентным центрифугированием супернатанта с последовательным удалением костных отломков, эритроцитов, жира и излишков плазмы с помощью плазмаэкстрактора. После этого полученную взвесь оценивали с помощью цитофлюориметра двухплатформенным методом по протоколу ISHADE на наличие ядросодержащих клеток, количество моноклеаров и клеток с маркером CD34+ (иммунофенотипирование с использованием антител к поверхностным маркерам стволовых клеток), а также на жизнеспособность этих клеток с использованием витальных

красителей. Содержание в полученной взвеси моноклеаров из грудины составляло 120–180 млн клеток, из подвздошных костей — 50–70 млн клеток, а клеток с маркером CD34+ в субстрате из грудины — 1,5–3 млн клеток, из подвздошных костей — 1–1,2 млн клеток. В течение 1 ч после эксфузии костного мозга и изоляции аутологичных моноклеарных клеток выполняли их интракоронарное введение через катетер в рентгенооперационной сразу после выполнения коронарной ангиографии.

Для оценки количественных показателей рассчитывали медиану и интервал. Сравнение количественных показателей внутри групп осуществляли с помощью t-критерия Вилкоксона, между группами — с помощью критерия U Манна—Уитни. Достоверность различий оценивали по таблице критических значений, соответствующего критерия при уровне значимости 0,05.

**Результаты и обсуждение.** При изучении динамики изменений фракции выброса у 53 пациентов, у которых она исходно была снижена (табл. 2), на протяжении 6 лет показатель отличался постепенным, но неуклонным ростом.

Динамика изменений диастолического (табл. 3) и систолического размеров (табл. 4) левого желудочка в основной группе не была столь однозначной. В течение 6 лет эти показатели изменялись несколько волнообразно, что видно

Таблица 3

**Динамика медианы ЛЖДР при проведении «клеточной» терапии у больных со снижением фракции выброса.**

Месяцы	Число больных	ЛЖДР до трансплантации МНКМ, мм		ЛЖДР после трансплантации МНКМ, мм		Разность медианы (мм)	p
		медиана	интервал	медиана	интервал		
6	17	67	59–76	66	54–74	–1	0,408
12	19	64	59–78	64	48–81	0	0,191
24	15	66	59–76	64	52–76	–2	0,272
36	8	64	59–76	65	55–77	1	0,735
48	6	67	61–73	64,5	54–75	–2,5	0,249
60	5	70	68–73	60	44–75	–10	0,144
72	3	70	63–73	56	55–65	–14	0,109

Таблица 4

**Динамика медианы систолического размера левого желудочка после «клеточной» терапии у больных со снижением фракции выброса**

Месяцы	Число больных	ЛЖСР до трансплантации МНКМ, мм		ЛЖСР после трансплантации МНКМ, мм		Разность медианы (мм)	р
		медиана	интервал	медиана	интервал		
6	17	52	45–59	52	38–60	0	0,490
12	19	50	42–66	48	28–66	-2	0,049
24	14	50	47–66	51	37–65	1	0,507
36	8	49	45–65	50	37–64	1	0,944
48	6	51	45–57	46	40–64	-5	0,715
60	5	54	49–57	45	29–59	-9	0,225
72	3	52	50–57	40	35–47	-12	0,109

Таблица 5

**Изменение медианы фракции выброса, диастолического и систолического размера левого желудочка в контрольной группе через 12 мес**

Показатель	Число больных	До трансплантации МНКМ		После трансплантации МНКМ		Разность медианы	р
		медиана	интервал	медиана	интервал		
ФВ, %	7	40	34–49	34	30–40	-6	0,018
ЛЖДР, мм	7	62	59–73	66	60–71	4	0,345
ЛЖСР, мм	7	49	39–56	49	41–56	0	0,463

по изменению разницы медианы. За последние 3 года эти изменения характеризовались постепенным уменьшением размеров (диастолического и систолического) в равной степени.

В контрольной группе изменения ФВ, диастолического и систолического размеров левого желудочка у больных, у которых ФВ была исходно снижена у 11 человек через 12 мес, свидетельствовали об отрицательной динамике показателя (табл. 5). Достоверное уменьшение медианы ФВ составило 6% ( $p=0,018$ ), медиана диастолического размера увеличилась на 4 мм ( $p=0,345$ ), систолического размера — не отличалась от исходной ( $p=0,463$ ).

Сравнение изменений этих показателей в обеих группах (табл. 6) (для сравнения с контрольной группой в основной группе учитывали только

больных, которым МНКМ вводили без оперативного лечения) показало, что такой показатель, как ФВЛЖ, исходно был выше, а значит — лучше в контрольной группе. Через 12 мес за счет уменьшения его в контрольной группе и увеличения в основной стал выше в основной группе (см. табл. 6). Изменения ЛЖДР (см. табл. 6) исходно были выраженными в основной группе. Несмотря на то, что этот показатель ухудшился и в той, и в другой группе, через 12 мес он стал лучше в основной группе, за счет того, что отрицательная динамика в контрольной была выражена больше (см. табл. 6). Систолический размер левого желудочка исходно был выше (см. табл. 6), а значит — хуже в основной группе. Через 12 мес этот показатель в обеих группах был одинаковым

Таблица 6

**Сравнительная характеристика изменений медианы фракции выброса, диастолического и систолического размера левого желудочка до начала наблюдения и через 12 мес в основной и контрольной группе**

Показатель	До начала наблюдения				р	Через 12 мес				р
	1-я подгруппа основной группы (n=15)		Контрольная группа (n=7)			1-я подгруппа основной группы (n=15)		Контрольная группа (n=7)		
	медиана	интервал	медиана	интервал		медиана	интервал	медиана	интервал	
ФВ, %	37	25–49	40	34–49	0,185	41	26–68	34	30–40	0,078
ЛЖДР, мм	64	59–78	62	59–73	0,447	65	48–81	66	60–71	0,680
ЛЖСР, мм	51	42–66	49	39–56	0,407	49	28–66	49	41–56	1,000

за счет уменьшения ЛЖДР в основной группе (см. табл. 6).

На протяжении последних 7 лет уже выполнены множество различных исследований, в которых для стимуляции процессов регенерации миокарда и ангиогенеза использовались клетки костного мозга, однако, однозначного ответа на вопрос, какие клетки необходимы для этой стимуляции, — нет. Некоторые исследователи использовали более узкую популяцию клеток из костного мозга, например, клетки с маркером CD133+ [2, 7]. Считается, что такой подход наименее вреден для миокарда. Но на сегодняшний день слишком мало известно о том, как происходит процесс регенерации миокарда. Поэтому в нашем исследовании для того, чтобы не исключить какой-либо элемент процесса регенерации, использовались все МНКМ. Практически во всех исследованиях для изоляции МНКМ использовался цитотоксичный препарат фиколл, который исходно рассчитан на применение *in vitro*, а не для клинических исследований [6]. Такой подход может сказываться на потенциале клеток, поэтому для исключения такой вероятности для изоляции мононуклеарных клеток костного мозга мы использовали раствор гидроксипропилкрахмала. Введение МНКМ осуществляли интракоронарно через катетер в рентгенооперационной. Такая методика доставки клеток в связи с ее малой инвазивностью, травматичностью и большей физиологичностью является оптимальной. Введение клеток и ранний послеоперационный период не сопровождались побочными эффектами и осложнениями. Сравнение гемодинамических показателей в отличие от многих исследований выполняли в двух группах больных, которые получали только консервативное лечение после манифестации стенокардии. Таким образом был исключен вероятный эффект от оперативного лечения в основной и контрольной группе.

**Выводы.** 1. Интракоронарное введение мононуклеарных клеток костного мозга является безопасным и эффективным методом инвазивной терапии у больных с ишемической болезнью сердца, которым по ряду причин противопоказано оперативное лечение, а консервативная терапия не дает желаемого эффекта.

2. Предлагаемая технология позволяет улучшить показатели фракции выброса и размеров левого желудочка, таким образом у ряда больных позволяет в дальнейшем осуществить операцию

реваскуляризации миокарда в том или ином варианте.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Abdel-Latif A., Bolli R., Tleyjeh I.M. et al. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis // *Arch. Intern. Med.*—2007.—Vol. 167, № 10.—P. 989–997.
2. Bartunek J., Vanderheyden M., Vandekerckhove B. et al. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety // *Circulation.*—2005.—Vol. 112, № 9 (Suppl.).—P. I178–I183.
3. Chen S-L., Fang W-W., Ye F. et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction // *Am. J. Cardiol.*—2004.—Vol. 94.—P. 92–95.
4. Janssens S., Dubois C., Bogaert J. et al. Autologous bone marrow derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial // *Lancet.*—2005.—Vol. 367.—P. 113–121.
5. Lunde K., Solheim S., Aakhus S. et al. Autologous stem cell transplantation in acute myocardial infarction: The ASTAMI randomized controlled trial. Intracoronary transplantation of autologous mononuclear bone marrow cells, study design and safety aspects // *Scand. Cardiovasc. J.*—2005.—Vol. 39, № 3.—P. 150–158.
6. Mocini D., Staibano M., Mele L. et al. Autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients undergoing coronary artery bypass grafting // *Am. Heart. J.*—2006.—Vol. 151, № 1.—P. 192–197.
7. Stamm C., Kleine H.D., Westphal B. et al. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction // *Thorac. Cardiovasc. Surg.*—2004.—Vol. 52, № 3.—P. 152–158.
8. Wollert K.C., Meyer G.P., Lotz J. et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial // *Lancet.*—2004.—Vol. 364.—P. 141–148.

Поступила в редакцию 02.02.2011 г.

S.N.Burnos, A.S.Nemkov, S.A.Bely, V.I.Lukashenko

#### **EJECTION FRACTION AND SIZES OF THE LEFT VENTRICLE OF THE HEART AFTER INTRACORONARY ADMINISTRATION OF AUTOLOGOUS MONONUCLEAR CELLS OF THE BONE MARROW IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE WITH LOW EJECTION FRACTION**

Since 2003 intracoronary administration of autologous bone marrow mononuclear cells has been performed in 119 patients with inoperable coronary artery disease, 53 of which had reduced ejection function that was gradually increased after injection of mononuclear bone marrow cells. By the 6th year the difference between the median of systolic and diastolic sizes of the left ventricle decreased by 12 and 14 mm respectively. In the control group the dynamics of changes of these indices at the same period was of negative character. The introduction of intracoronary bone marrow mononuclear cells is a safe and effective method of invasive therapy in patients with coronary artery disease to whom surgery is contraindicated.