

Оригинальные статьи

СЕДОВ В. М., БУРНОС С. Н.,
НЕМКОВ А. С., БЕЛЫЙ С. А.,
НЕСТЕРУК Ю. А. ЮДИНА О. В.

Изменение показателей перфузии миокарда после интракоронарного введения аутологичных моноклеарных клеток костного мозга больным ишемической болезнью сердца. Пятилетнее наблюдение

Кафедра факультетской хирургии с клиникой СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова
e-mail: vmsedov@spmu.rssi.ru

Реферат

Начиная с 2003 года, в исследовании с интракоронарным введением аутологичных моноклеарных клеток костного мозга приняли участие 119 неоперабельных больных с ишемической болезнью сердца. У 41 из них посредством однофотонной эмиссионной компьютерной томографии оценивалась перфузия миокарда. Полученные данные свидетельствуют об улучшении перфузии миокарда. В основной массе пациентов такая тенденция сохраняется до 3 лет — медиана доли миокарда с дефицитом перфузии 40 % и более уменьшалась на 1,1–5,1 %, а в отдельных случаях улучшение перфузии сохраняется до пяти лет. Интракоронарное введение моноклеарных клеток костного мозга является безопасным и эффективным методом инвазивной терапии у больных ишемической болезнью сердца, которым по ряду причин противопоказано оперативное лечение, а консервативная терапия не дает желаемого эффекта. Полученные данные свидетельствуют о стойком улучшении перфузии миокарда в некоторых случаях до 5 лет.

Ключевые слова: перфузия миокарда, моноклеарные клетки костного мозга, ишемическая болезнь сердца.

**Sedov V. M., Burnos S. N., Nemkov A. S.,
Belyi S. A., Nesteruk Y. A., Yudina O. V.**

Changes of myocardial perfusion after intracoronary administration of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with coronary artery disease. Five-year follow-up

The Department of Faculty Surgery with the clinic Saint-Petersburg Pavlovs State Medical University
e-mail: vmsedov@spmu.rssi.ru

Abstract

Starting in 2003, a study with intracoronary administration autologous bone marrow mononuclear cells attended 119 patients with inoperable coronary artery disease. In 41 of which by single photon emission computed tomography myocardial perfusion was assessed. The findings suggest that there is a place for the improvement of myocardial perfusion. In the bulk of patients this trend persists up to 3 years — the median proportion of myocardium with a deficit of perfusion 40 % or more was reduced by 1,1–5,1 %, and in some cases, improvement of perfusion is preserved up to five years. The introduction of intracoronary bone marrow mononuclear cells is safe and effective method of invasive therapy in patients with coronary artery disease to whom for various reasons surgery is contraindicated, but medical treatment didn't give the desired effect. The findings suggest about sustained improvement in myocardial perfusion in some cases up to 5 years.

Keywords: myocardial perfusion, marrow mononuclear cells, coronary artery disease.

Введение

Во многих экспериментальных работах на животных была продемонстрирована не только безопасность применения моноклеарных клеток костного мозга, но и положительные тенденции в плане динамики болезни, по поводу которой они применялись [5, 8, 13]. С тех пор вот уже на протяжении 7 лет выполнено немалое количество клинических исследований с применением аутологичных моноклеарных клеток костного мозга при лечении больных ишемической болезнью сердца [1, 12, 14]. В большинстве случаев введение моноклеарных клеток костного мозга осуществлялось как дополнительная процедура к оперативному лечению. Чаще в сочетании с ангиопластикой и стентированием коронарных артерий [2, 3, 10], реже в сочетании с операцией коронарного шунтирования [6, 11]. Оценка перфузии миокарда проводилась в немногих из этих исследований [2, 4, 7, 9]. Полученные данные свидетельствовали об улучшении перфузии миокарда, при этом, сравнивая эти изменения с контрольной группой, эффект был больше выражен в основной группе пациентов. Сроки наблюдения изменений перфузии миокарда у таких пациентов не превышают шести месяцев. В нашем исследовании оценка перфузии миокарда выполнялась у тех пациентов, которым моноклеарные клетки костного мозга вводились без оперативного лечения, тем самым был исключен возможный эффект от такого лечения, а продолжительность наблюдения за этим показателем в некоторых случаях достигла пяти лет.

Материал и методы исследования

В исследование включались больные мужского и женского пола от 18 до 80 лет. Обязательным было наличие у пациентов ишемической болезни

сердца со стенокардией напряжения III–IV функционального класса или ишемической кардиомиопатии. Также в исследование включались больные, 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, или из-за других хронических заболеваний препятствующих оперативному лечению.

В исследование не включались больные: старше 80 лет, имеющие непереносимость гепарина и гидроксиэтилкрахмала, сопутствующую патологию, ограничивающую продолжительности жизни до 3 лет, гипотиреоз или гипертиреоз, очаги инфекции или участвующие в другом исследовании.

Начиная с 2003 года, в исследовании приняло участие 119 больных ишемической болезнью сердца, 97-и пациентам введение моноклеарных клеток костного мозга выполнялось как самостоятельная процедура, без дополнительного оперативного лечения. Общая характеристика пациентов представлена в Таблице 1.

Однофотонная эмиссионная компьютерная томография была выполнена 41 больному в состоянии покоя, натошак. Через 50 минут после внутривенного введения рентген-фармпрепарата (РФП)–99mTc-технетрила, в дозе 500 МБк выполнялось сканирование миокарда с использованием гамма-камеры «DDC-SPECT Picker». При помощи программы реконструкции изображения формировались срезы сердца в поперечной, продольно-вертикальной (сагиттальной) и продольно-горизонтальной (фронтальной) плоскости. Наглядная картина результата отражалась в полярной карте разбитой на 16 сегмен-

Общая характеристика больных

Таблица 1	
	Группа больных получивших МНКМ
Всего больных в группе	119
Мужчины	106 (89 %)
Женщины	13 (11 %)
Возраст	58,1±7,9
Инфаркт миокарда	1,52±0,93
Сердечная недостаточность (ф. кл., NYHA)	2,41±0,61
Стенокардия напряжения (ф. кл., CCS)	2,75±0,59
Гипертоническая болезнь	2,48±0,5
ФВ ЛЖ	48,1±12,7
ЛЖДР	60,3±9,26
ЛЖСР	44,7±10,8
Уровень общего холестерина крови (ммоль/л)	4,77±1,16
Уровень глюкозы крови (ммоль/л)	5,59±1,10
Мерцательная аритмия	6 (5 %)
ИБМ	9 (8 %)
ОАСНК	8 (7 %)

тов, представлявших из себя стенки левого желудочка с привязкой к ним коронарных артерий. Зона снижения или отсутствия перфузии была представлена на карте участками со сниженным излучением РФП, тогда как зона нормальной перфузии представлялась повышенным излучением РФП. Градация снижения перфузии по отношению к сегменту с максимальным накоплением РФП производилась следующим образом:

— нормальный уровень 100–70 % накопления РФП;

- незначительное снижение 69–55 %;
- умеренное снижение 54–45 %;
- значительное снижение 44–30 %;
- резкое снижение 29–0 %.

Для нас представляла интерес доля миокарда с общей площадью снижения перфузии 40 % и более до введения мононуклеарных клеток костного мозга и через 3, 6, 12, 24, 36, 48 и 60 месяцев после него.

Всем больным, подходившим для участия в исследовании по вышеописанным критериям, после соответствующего обследования в условиях общей анестезии дигриваном в операционной выполнялась эксфузия 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 использовался раствор гепарина (50 ед на 1 мл) в соотношении гепарин : костный мозг – 1 : 3. Затем для получения мононуклеарной взвеси выполняли седиментацию с помощью гидроксиэтилкрахмала и последующим градиентным центрифугированием супернатанта с последовательным удалением костных отломков, эритроцитов, жира и излишков плазмы с помощью плазмаэкстрактора. После этого полученная взвесь оценивалась с помощью цитофлуориметра двухплатформенным методом по протоколу ISHADE на наличие ядродержащих клеток, количество мононуклеаров и клеток с маркером CD34+ (иммунофенотипирование с использованием антител к поверхностным маркерам), а также на жизнеспособность этих клеток с использованием витальных красителей. Содержание в полученной взвеси мононуклеа-

ров 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 часа после эксфузии костного мозга и изоляции аутологических мононуклеарных клеток, выполнялось их интракоронарное введение через катетер в рентген-операционной сразу после выполнения коронарной ангиографии.

Для оценки количественных показателей рассчитывались медиана и интервал. Сравнение количественных показателей осуществлялось с помощью *t* критерия Вилкоксона. Достоверность различий оценивалась по таблице критических значений данного критерия при уровне значимости 0,05.

Результаты и их обсуждение

Доля пораженного миокарда начала уменьшаться уже на 3 месяце наблюдения и носила волнообразную изменчивость на протяжении 3 лет наблюдения, при этом ни разу не поднималась выше исходного значения (Таблица 2). И только через 4 года наблюдения динамика стала отрицательной и медиана доли миокарда с дефицитом перфузии увеличилась на 5,3 % от исходного значения. Динамика изменения доли миокарда с дефицитом перфузии миокарда 40 % и больше представлена на рис. 1.

Наглядно общая тенденция изменений перфузии в течение пяти лет представлена на рис. 2. Данные полярные карты принадлежат пациенту «В», который страдает ишемической болезнью сердца с 1990 года. В 2001 году при коронарной ангиографии у него были выявлены гемодинамически значимые стенозы передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии – стеноз 70 %, огибающей ветви левой коронарной артерии – стеноз 70 % и правой коронарной артерии – стеноз 70 % в проксимальной трети и окклюзия в дистальной трети. В феврале 2002 года выполнена операция коронарного шунтирования (2 аутовенозных шунта к правой коронарной артерии и 1 маммаро-коронарный шунт к передней межжелудочковой ветви левой коро-

Изменение медианы дефицита перфузии миокарда по данным ОФЭКТ

Таблица 2

Месяцы	N	Доля миокарда со сниженной перфузией более 60 % до трансплантации МНКМ (%)		Доля миокарда со сниженной перфузией более 60 % после трансплантации МНКМ (%)		Разность медианы	p
		медиана	интервал	медиана	интервал		
3	17	16,9	5,4–42,2	11,8	1,6–39,7	-5,1	0,055
6	19	16,7	6,1–38,0	15,6	3,2–31,9	-1,1	0,546
12	16	23,7	5,4–42,2	19,8	2,6–41,0	-3,9	0,066
24	10	18,5	6,5–42,2	16,4	2,3–31,4	-2,1	0,445
36	5	24,0	6,8–42,2	21,7	13,4–28,8	-2,3	0,225
48	2	21,4	18,7–24,0	26,7	14,3–39,0	5,3	–

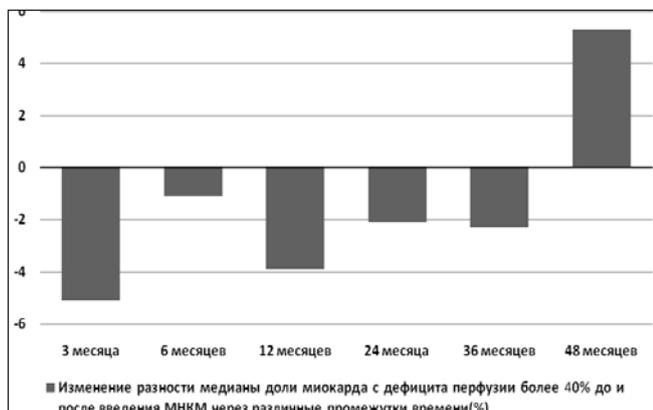


Рис. 1. Динамика изменение дефицита перфузии миокарда по данным однофотонной эмиссионной компьютерной томографии

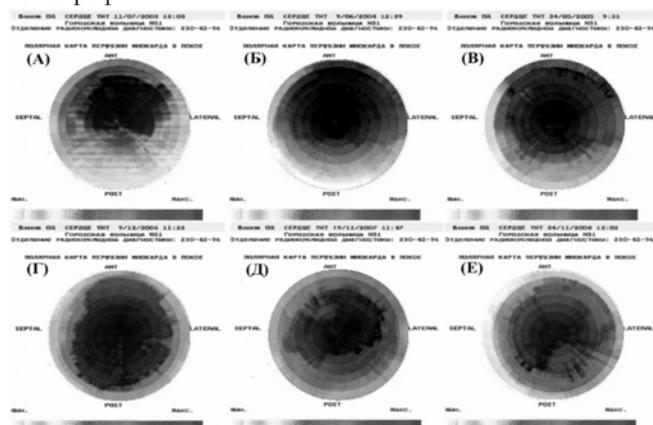


Рис. 2. Динамика изменения однофотонной эмиссионной компьютерной томографии у пациента «В». Рассчитанная доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и больше выполнялся по этим полярным картам. (А) – полярная карта до введения мононуклеарных клеток костного мозга, доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и больше – 18,4 %; (Б) – через 1 год, доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и больше – 8,7 %; (В) – через 2 года, доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и больше – 6,1 %; (Г) – через 3 года, доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и больше – 6,0 %; (Д) – через 4 года, доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и больше – 14,0 %; (Е) – через 5 лет, доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и больше – 18,0 %

нарной артерии). Но в 2003 году пациент перенес острый инфаркт миокарда с рецидивом стенокардии на уровне 3 функционального класса. При коронарной ангиографии в июне 2003 года гемодинамическая картина сохранилась на уровне 2001 года, при шунтографии – шунт внутренней грудной артерии к передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии функционировал, а шунты к правой коронарной артерии не контрастировались. По данным однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) доля дефицита перфузии 40 % и больше составила 18,4 %. Эхокардиографические показатели гемодинамики были в пределах нормы. Пациенту было назначено консервативное лечение, после чего он наблюдался на протяжении 5 месяцев – значимого улучшения состояния не наблюдалось, сохранялись жалобы на боли давящего

характера в области сердца при незначительной физической нагрузке (подъем по лестнице – меньше одного лестничного пролета). Больному было предложено введение мононуклеарных клеток костного мозга, разъяснены перспективы и риски, после чего пациент подписал документ о добровольном информированном согласии на участие в клиническом исследовании и был в него включен. В декабре 2003 года была выполнена интракоронарная трансплантация аутологичных мононуклеаров костного мозга. Операция протекала без осложнений, после чего больной наблюдался на протяжении 10 дней в стационаре для исключения возможных послеоперационных осложнений и был выписан в удовлетворительном состоянии. Спустя 6 месяцев во время контрольного визита больной отметил, что эпизоды стенокардии стали возникать значительно реже, а переносимость физической нагрузки повысилась (3 лестничных пролета до возникновения болевого эпизода). Такая тенденция сохранялась на протяжении 3 лет. Функциональный класс стенокардии понизился до уровня 1–2. За это время пациент ни разу не обращался за неотложной медицинской помощью, а также ни разу не был госпитализирован в экстренном порядке, при этом спокойно выполнял хозяйственную работу по дому и на даче. На четвертый год наблюдения пациент пожаловался на некоторое ухудшение общего состояния и снижение толерантности к физической нагрузке, но при этом отметил, что чувствует себя хоть и хуже, чем 1 год назад, но лучше, чем до введения мононуклеарных клеток костного мозга. На протяжении всего наблюдения, по данным однофотонной эмиссионной компьютерной томографии, была характерная картина изменения дефицита перфузии миокарда. Через 1 год после их введения доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и более сократилась с 18,4 % до 8,7 %; через 2 года до 6,1 %, через 3 года до 6 %, а через 4 года увеличилась до 14 %, через 5 лет доля миокарда с дефицитом перфузии 40 % и более составила 18 %. Гемодинамические показатели сердца при этом не ухудшались ФВ левого желудочка, а также его диастолический и систолический размеры сохранялись в пределах нормы. По данным контрольной коронарной ангиографии представленной на рис. 3, через 7 лет значимых изменений коронарного русла, по сравнению с исходными данными, отмечено не было – стенозы не исчезли, но и новые не появились, из шунтов, как и прежде, функционирует только маммаро-коронарный шунт. В связи с тем, что заболевание снова начало прогрессировать, весной 2010 года пациенту было предложено и выполнено повторное введение аутологичных мононуклеарных клеток костного мозга. Операция и послеоперационный период протекали без осложнений. Таким образом, пациент «В» стал одним из немногих пациентов, кому мононуклеарные клетки костного мозга вводились дважды. В настоящее время больной продолжает наблюдаться.

Хотя в некоторых исследованиях уменьшение доли миокарда с дефицитом перфузии достигало 10 % [9], продолжительность наблюдения за этим

показателем не превышала 6 месяцев. Нам удалось проследить за этими изменениями в некоторых случаях в течение пяти лет. Уменьшение доли миокарда с дефицитом перфузии было очень умеренное, но при этом оно сохранялось в основной массе наблюдаемых на протяжении 3 лет, а в отдельных случаях и на протяжении 5 лет. Так как о таких длительных наблюдениях нам неизвестно, сравнивать наши данные на сегодняшний день не с чем. К сожалению, исследование было ограничено тем, что в контрольной группе оценка перфузии миокарда не выполнялась, но характер изменений перфузии в основной группе практически всегда коррелировал с клиническими проявлениями болезни. При ангиографии коронарных артерий у пациентов с улучшением перфузии данных за изменение в магистральных артериях сердца мы не получили, стенозы и окклюзии остались в тех же местах, новых не появилось. Исходя из таких данных, можно предположить, что перфузия миокарда улучшается за счет микроциркуляторного русла, увеличения капиллярной сети миокарда, что соответствует предположению о влиянии клеток мононуклеарной фракции костного мозга на неоангиогенез.

Выводы

1. Интракоронарное введение мононуклеарных клеток костного мозга является безопасным и эффективным методом инвазивной терапии у больных ишемической болезнью сердца, которым по

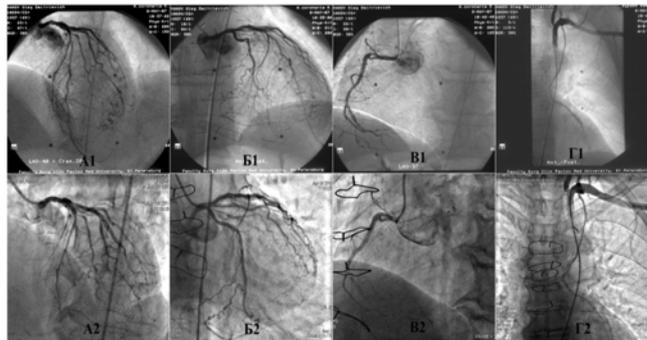


Рис. 3. Динамика изменений коронарной ангиографии у пациента «В». А1, Б1 – Левой коронарной артерии и ее ветвей через 4 года после введения мононуклеарных клеток костного мозга; А2, Б2 – Левой коронарной артерии и ее ветвей через 7 лет после введения мононуклеарных клеток костного мозга. В1 – Правой коронарной артерии и ее ветвей через 4 года; В2 – Правой коронарной артерии и ее ветвей через 7 лет. Г1 – Маммарокоронарный шунт к передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии через 4 года; Г2 – Маммарокоронарный шунт к передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии через 7 лет.

ряду причин противопоказано оперативное лечение, а консервативная терапия не дает желаемого эффекта.

2. Полученные данные свидетельствуют о стойком улучшении перфузии миокарда в некото-

Литература

1. Assmus, B. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI) / B. Assmus [et al] // *Circulation*. — 2002. — Vol. 106. — № 24. — P. 3009–3017.
2. Bartunek, J. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety / J. Bartunek [et al] // *Circulation*. — 2005. — Vol. 112. — № 9. — P. 1178–1183.
3. Fernández-Avilés, F. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction / F. Fernández-Avilés [et al] // *Circulation research*. — 2004. — Vol. 95. — № 7. — P. 742–748.
4. Ge, J. Efficacy of emergent transcatheter transplantation of stem cells for treatment of acute myocardial infarction (TCT-STAMI) / J. Ge [et al] // *Heart*. — 2006. — Vol. 92. — № 12. — P. 1764–1767.
5. Hamano, K. Therapeutic angiogenesis induced by local autologous bone marrow cell implantation / K. Hamano [et al] // *Ann Thorac. Surg.* — 2002. — № 73. — P. 1210–1215.
6. Hendriks, M. Recovery of regional but not global contractile function by the direct intramyocardial autologous bone marrow transplantation: results from a randomized controlled clinical trial / M. Hendriks [et al] // *Circulation*. — 2006. — Vol. 114. — № 1. — P. 1101–1107.
7. Kang, H. J. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and

restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical / H. J. Kang [et al] // *Lancet*. — 2004. — Vol. 363. — № 9411. — P. 751–756.

8. Orlic, D. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice / D. Orlic [et al] // *Ann. N.-Y. Acad. Sci.* — 2001. — № 938. — P. 221–229.

9. Perin, E. C. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure / E. C. Perin [et al] // *Circulation*. — 2003. — Vol. 107. — № 18. — P. 2294–2302.

10. Schächinger, V. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction / V. Schächinger [et al] // *The New England journal of medicine*. — 2006. — Vol. 355. — № 12. — P. 1210–1221.

11. Stamm, C. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction / C. Stamm [et al] // *The Thoracic and cardiovascular surgeon*. — 2004. — Vol. 52. — № 3. — P. 152–158.

12. Strauer, B. E. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans / B. E. Strauer [et al] // *Circulation*. — 2002. — Vol. 106. — № 15. — P. 1913–1918.

13. Tang, Y. L. Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium / Y. L. Tang [et al] // *Regul. Pept.* — 2004. — № 117. — P. 3–10.

14. Wollert, K. C. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial / K. C. Wollert [et al] // *Lancet*. — 2004. — Vol. 364. — № 9429. — P. 141–148.