

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ХІРУРГІЇ ТА
ТРАНСПЛАНТОЛОГІЇ імені О. О. ШАЛІМОВА»**

ЕСТРІН СЕРГІЙ ІГОРОВИЧ

УДК 616.12-009.72-08-089+616.12-009.72-089.844:576.3

**КЛІТИННА КАРДІОМІОПЛАСТИКА В КОМПЛЕКСНОМУ
ЛІКУВАННІ РЕФРАКТЕРНОЇ СТЕНОКАРДІЇ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.01.08 «Трансплантологія та штучні органи»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Державній установі «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака» НАМН України

Науковий консультант

доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАМН України

Усенко Олександр Юрійович,

Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України,
директор

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор, член-кореспондент
НАН України, академік НАМН України

Никоненко Олександр Семенович,

Державний заклад «Запорізька медична академія
післядипломної освіти» МОЗ України,
ректор

доктор медичних наук, старший науковий співробітник

Руденко Костянтин Володимирович,

Державна установа «Національний інститут серцево-
судинної хірургії імені М. М. Амосова» НАМН України,
заступник директора з лікувально-координаційної
роботи

доктор медичних наук, професор

Карпенко Юрій Іванович,

Одеський національний медичний університет,
завідуючий кафедрою внутрішньої медицини №1 з
курсом серцево-судинної патології

Захист відбудеться «17» вересня 2021 року о 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.561.01 у Державній установі «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України за адресою: 03680, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Державної установи «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України за адресою: 03680, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30.

Автореферат розісланий «11» серпня 2021 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор медичних наук



О. С. Тивончук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Ішемічна хвороба серця займає перше місце серед серцево-судинних захворювань за частотою ускладнень і кількістю летальних наслідків. В США вона є причиною кожної п'ятої смерті (Rolande D. M., 2014). Самий високий показник летальності від ішемічної хвороби серця зафіксован в Україні, самий низький у Південній Кореї. Летальність від ішемічної хвороби серця в Україні 693 на 100 000 населення у 2017 році (Полякова Д. С., 2019). Традиційними методами лікування цієї категорії хворих на теперішній час є медикаментозна терапія і пряма реваскуляризація міокарда: коронарне шунтування, черезшкірні інтервенції у вигляді ангіопластики та стентування. В останні роки набирає обертів також трансплантація серця. Існуюча на теперішній час медикаментозна терапія, зазвичай, є недостатньо ефективною у запобіганні процесів ремоделювання міокарда і формуванні систолічної дисфункції (Alba A. C. et al 2018; Nanayakkara S. et al. 2018).

Хірургічні методи лікування показали свої переваги у порівнянні з ізольованою медикаментозною терапією (Patel A. et al 2005; Акчурін Р. С., Шіряєв А. А., 2014), однак, існує велика група пацієнтів, яким за тими чи іншими причинами неможливо виконати пряму реваскуляризацію міокарда. Крім того, існує група хворих зі зворотньою, прогресуючою стенокардією, у яких реваскуляризація вже була виконана, а повторна операція неможлива (Silva G., 2004; Fachs S., 2006). Найбільш часта причина неможливості повторного втручання – високий ризик у зв'язку з вираженою систолічною дисфункцією лівого шлуночка. Таких пацієнтів відносять до групи рефрактерної стенокардії. Визначення рефрактерної стенокардії було запропоновано у 2002 році Європейським суспільством кардіологів: рефрактерна стенокардія – це хронічний стан (більш ніж 3 місяці), що характеризується наявністю стенокардії, причиною якої є недостатність вільного кровообігу, яка супроводжується важкими клінічними симптомами, які не вдається контролювати комбінованою медикаментозною терапією у максимально переносимих дозах при неможливості виконати реваскуляризацію міокарда (Любченко І. С., 2011).

Сучасні дослідження в області біології стовбурової клітини кардинально змінили всі уявлення про регенеративні здатності міокарда та стали початком нового лікувального напрямку – клітинної кардіоміопластики, який спрямований на заміщення пошкоджених кардіоміоцитів шляхом імплантації стовбурових клітин (Гринь В. К. 2014; Габрієлян А. В., 2020; Donndorf P., 2012). Протягом останніх років ця процедура була впроваджена в клінічну практику задля поліпшення результатів лікування пацієнтів з ішемічною дисфункцією міокарда (Покушалов Є. А., Клівер О. Н., 2015; Мосіні Д., 2006). Однак, усі клінічні дослідження щодо ендоміокардіальної імплантації аутологічних стовбурових клітин кісткового мозку включають результати лікування невеликої кількості хворих (Коноплянников М. А., Авер'янов А. В., Кальсін В. А., 2017; Traverse J. H., 2012; Perin E. C., 2012).

До тепер багато фундаментальних питань клітинної терапії залишаються відкритими. Це механізми хоумінга, диференціювання і приживлення трансплантованих стовбурових клітин, роль клітинного злиття і механізми впливу трансплантованих клітин на функцію і метаболізм серцевого м'язу. Залишається також предметом дискусії найбільш ефективний спосіб доставки клітин в міокард, час проведення кардіоміопластики, різновидність стовбурових клітин, кількість клітин в трансплантаті та способи його підготовки, хоча дослідженню цих питань присвячено багато робіт (Клівер О. Н., 2016; Fuchs S., 2006).

Таким чином, існує потреба в розробці оптимальної комбінації лікування хворих на ішемічну хворобу серця, яка ускладнена ішемічною дисфункцією міокарда, коли немає можливості для первинної або повторної прямої реваскуляризації, що дасть можливість збільшити віддалену виживаність, поліпшити якість життя і збільшити його тривалість.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Державної установи «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака НАМН України» на теми: «Вивчення ролі трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин у регенерації міокарда щурів з експериментальним ушкодженням серця» (номер державної реєстрації 0105U002702), «Вивчення можливості клінічного застосування аутологічних стовбурових клітин для лікування хворих з рефрактерною стенокардією» (номер державної реєстрації 0108U000565).

Мета та завдання дослідження. Мета дисертаційного дослідження – поліпшення безпосередніх і віддалених результатів лікування хворих на рефрактерну стенокардію шляхом застосування клітинної трансплантації на підставі вивчення патогенетичних механізмів впливу на міокард і показники метаболізму.

Для досягнення поставленої мети було необхідно вирішити наступні завдання:

1. На основі експериментальних досліджень встановити головні механізми впливу аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин і «порожніх» ін'єкцій в міокард на процеси ангіогенезу і стан судинного тонуру.

2. В експерименті вивчити особливості впливу аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на інтенсивність перекисного окислення ліпідів при інфаркті міокарда.

3. В експериментальному дослідженні визначити вплив аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на морфометричні і функціональні показники серця при інфаркті міокарда.

4. Вивчити вплив трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на біоелектричну активність серця при експериментальному інфаркті міокарда.

5. Дослідити ефективність застосування аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку при лікуванні хворих на рефрактерну стенокардію і безпечність застосування останніх.

6. Розробити алгоритм обстеження хворих з рефрактерною стенокардією, що ускладнена серцевою недостатністю, з використанням навігаційної системи NOGA XR.

7. Розробити методіку трансендокардіальних ін'єкцій аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин при рефрактерній стенокардії.

8. Дослідити та порівняти ефективність трансендокардіальних ін'єкцій і внутрішньовенного введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин при тяжких формах ішемічної хвороби серця, що ускладнена серцевою недостатністю і встановити найбільш ефективні методики виконання трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин, виявити можливу ефективність «порожніх» ін'єкцій.

9. Розробити комплексну програму застосування аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин як етап підготовки до коронарного шунтування при стенокардії напруги у пацієнтів з систолічною дисфункцією лівого шлуночка.

10. Оцінити ефективність трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин у хворих на рефрактерну стенокардію у віддаленому посттрансплантаційному періоді і розробити алгоритм лікування.

11. Дослідити клінічну ефективність розробленого алгоритму лікування на основі вивчення виживаності і якості життя пацієнтів.

Об'єкт дослідження – рефрактерна стенокардія, модельований гострий інфаркт міокарда.

Предмет дослідження – показники, які характеризують якість життя, клінічний перебіг, функціональні особливості, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантну систему, обмін ліпідів та прогноз у хворих з серцевою недостатністю та зниженою скоротливістю лівого шлуночка.

Методи дослідження: поставлені завдання вирішувалися за допомогою клінічних, морфологічних, імуногістохімічних, функціональних, лабораторних, (вивчення біохімічного статусу) методів дослідження. Інструментальні методи включали електрокардіографію, ехокардіографію, вектор-ехокардіографію, коронаровентрікулографію, електромеханічне картування міокарда. Статистичний аналіз проводився з використанням методів параметричної та непараметричної статистики

Наукова новизна одержаних результатів. В роботі отримані нові наукові дані, на підставі яких розроблено новий комплексний тактичний підхід щодо формування нового напрямку вирішення питань діагностики, патогенезу, та комплексного лікування хворих на рефрактерну стенокардію з використанням аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин.

В експерименті був запропонований новий підхід, спрямований на посилення регенерації міокарда, заснований на трансплантації стовбурових

прогеніторних клітин, який показав свою ефективність і перспективність для лікування наслідків ішемії міокарда.

Вперше на основі морфологічних, біохімічних і функціональних параметрів встановлені ефекти аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин при експериментальному інфаркті міокарда. Вперше в експерименті доведено позитивний вплив інтраміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на процеси неоангіогенезу при гострому інфаркті міокарда. Трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин сприяла значному поліпшенню васкуляризації в зоні інфаркту, що призводило до зменшення ішемії в прикордонних з інфарктом зонах та ішемічного ушкодження кардіоміоцитів в цих областях, і, в результаті, призводило до зменшення площі рубця та попередження формування аневризми серця.

Доведено, що трансплантовані клітини активно брали участь у формуванні судин і сполучної тканини в зоні рубцювання, процес який завершувався на 21 добу після моделювання інфаркту міокарда.

В експерименті уточнені механізми впливу трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин при гострому інфаркті міокарда, які полягали в зменшенні альтерації міокарда, викликаній ішемією, стимуляції природних систем антиоксидантного захисту, гальмуванні процесів перекисного окислення ліпідів і зниженні експресії антиоксидантних білків плазми крові. Таким чином, трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин дозволяла оптимізувати обмін кисню кардіоміоцитами і стабілізувати процеси аеробного і анаеробного гліколізу.

Вперше в експерименті показано, що трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин сприяла активації компенсаторних механізмів серцево-судинної системи, спрямованих на нормалізацію реакції міокарда на стрес.

Експериментальними дослідженнями показано, що клітинна кардіоміопластика значно покращувала структуру постінфарктного серця, що проявлялося в зменшенні зони рубця і сполучної тканини відповідно, збільшенні кількості судин і відсотка збережених м'язових волокон. Найкращі результати були досягнуті при інтраміокардіальному введенні, що вимагає підтвердження даного факту при клінічному дослідженні. Такий ефект пов'язаний з тим, що аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини володіють високими адгезивними властивостями і при інтракоронарному введенні може відбуватися часткове тромбування судин мікроциркуляторного русла, що може призводити до розширення зони ішемії. Селективне інтраміокардіальне введення супроводжується максимальною концентрацією клітинного трансплантата локально в зоні ішемії і гібернуючого міокарда, і це підсилює лікувальний ефект. Внутрішньовенне введення продемонструвало середні показники між двома вищезгаданими методами доставки клітинного трансплантата.

Доведено, що клітинна кардіоміопластика при будь-якому способі введення, позитивно впливає на морфометричні показники серця у вигляді зменшення розмірів рубця при постінфарктному ремоделюванні, збільшення кількості новостворених судин і збільшення відсотка збережених кардіоміоцитів. Це відбувається за рахунок хоумінга аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин в зону ішемії та спільності двох механізмів – безпосереднього диференціювання в клітини ендотелію судин серця і паракринного ефекту.

Була висунута гіпотеза можливості прискорення неоангіогенезу після виконання ін'єкцій в міокард за рахунок запальної реакції в області альтерації. Але при аналізі результатів лікування суб'єктів з «порожніми» ін'єкціями в серцевий м'яз, не було отримано достовірної різниці. Крім того, відбувалося розростання рубцевої тканини в місці ін'єкції, що посилювало ряд показників. Даний факт було підтверджено під час гістологічного дослідження сердець після виведення тварин з експерименту.

Отримані нові знання про клінічну ефективність і безпечність використання методу трансендоміокардіальної імплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку при комплексному підході до лікування хворих з ішемічною дисфункцією міокарда в поєднанні з комплексною медикаментозною терапією.

Вперше науково обґрунтована безпечність застосування методу ендоміокардіальної імплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку у хворих з рефрактерною стенокардією.

Встановлено позитивний вплив трансендоміокардіальної трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на клінічний перебіг захворювання, динаміку функціонального класу стенокардії і перебіг хронічної серцевої недостатності у хворих на ішемічну хворобу серця.

Дана оцінка внутрішньосерцевої гемодинаміки і скорочувальної функції лівого шлуночка у віддаленому посттрансплантаційному періоді, обґрунтовано покращення перфузії міокарда при різних методах трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин і науково доведені переваги трансендоміокардіального шляху введення стовбурових клітин.

Вперше науково обґрунтована доцільність електромеханічного картування лівого шлуночка з метою визначення зон гібернованого міокарда. Рекомендовано динамічне спостереження за пацієнтами через 1, 3, 6 та 12 місяців. Доцільним є повторна трансплантація стовбурових клітин через 12 місяців після первинного введення.

Практичне значення одержаних результатів. Застосування методу трансендоміокардіальної трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку при ішемічній дисфункції міокарда сприяло зниженню функціонального класу стенокардії і хронічної серцевої недостатності, покращенню якості життя хворих.

Електромеханічне картування може виконуватися з метою оптимізації використання клітинної терапії в клінічній практиці.

Практичній охороні здоров'я запропоновані: спосіб ін'єкцій мезенхімальних аутологічних стовбурових клітин кісткового мозку в зони гібернованого міокарда, при цьому уникаючи ін'єкцій в область верхівки, мітрального клапана через високий ризик перфорації і в області реєстрації потенціалів пучка Гіса через ризик розвитку блокади (патент України №43994); спосіб введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин у вустя коронарних артерій за допомогою катетерів Judkins Left та Judkins Right вводили аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини (патент України №56597). Загальна кількість введених клітин – 50 000 000.

Трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку може використовуватися на етапі підготовки до виконання реваскуляризації міокарду через 6 місяців у хворих на ішемічну хворобу серця.

Результати дисертаційного дослідження впроваджені в практику і широко використовуються в лікувальному процесі відділу трансплантації та хірургії серця Державної установи «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України. Результати дослідження включені в навчальний процес циклу по спеціальності «Трансплантологія» Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України. Отримано галузеве нововведення на розроблені способи лікування хворих з рефрактерною стенокардією.

Особистий внесок здобувача. Ідея дисертаційної роботи, обґрунтування мети, завдань та способів їх вирішення належать автору. Автором особисто проведено аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури за проблемою, інформаційний пошук, набір клінічного матеріалу, вибір та обґрунтування методів дослідження, статистична обробка отриманих даних, підготовлено до друку наукові статті, окремі розділи до навчального посібника для студентів, заявки на запропоновані винаходи. Автор є співавтором монографії. Автор приймав участь у експериментальних дослідженнях. Автор самостійно виконував більшість оперативних втручань більшості хворих, включених в дослідження.

Апробація результатів дисертації. Основні результати та положення дисертації було представлено на: Міжнародній науково-практичній конференції «Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики» (м. Одеса, 2013 р.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Генетична і регенеративна медицина: проблеми та перспективи» (м. Київ, 2010 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії» (м. Львів, 2013 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (м. Київ, 2013 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення» (м. Дніпропетровськ, 2013 р.); Науково-практичній конференції «Актуальні питання клінічної кардіології» (м. Донецьк, 2013 р.); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченої 100-річчю від дня народження професора А. П. Пелешука «Актуальні питання внутрішньої медицини»

(м. Київ, 2013 р.); I Євразійському з'їзді патофізіологів, присвяченому 80-річчю кафедри патофізіології КазНМУ імені С. Д. Асфендіярова «Патологічна фізіологія: сучасний стан, проблеми і перспективи» (м. Алмати, 2013 р.)

Публікації. За темою дисертації опубліковано 33 наукові праці, з них монографія, 17 статей у наукових фахових виданнях України, 5 статей у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 8 тез наукових доповідей, 2 патенти України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 330 сторінках, складається із анотацій, вступу, шести розділів, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Основний текст містить 53 таблиць та 86 рисунків. Список цитованої літератури включає 364 джерел (з них 209 латиницею).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РЕФРАКТЕРНУ СТЕНОКАРДІЮ, МЕТОДИ ЇЇ ЛІКУВАННЯ І РЕГЕНЕРАЦІЮ СЕРЦЯ (огляд літератури)

Серцева недостатність, що викликається ішемічною хворобою серця або кардіоміопатіями, є одним з найважчих захворювань з поганим прогнозом. Незважаючи на великий арсенал медикаментозних препаратів і хірургічних видів лікування, на даний час залишається значне число хворих на стенокардію, у яких хірургічне втручання з різних причин неможливо, а медикаментозна терапія недостатньо ефективна. Термін рефрактерна стенокардія було запропоновано в 2002 році об'єднаною групою Європейського товариства кардіологів з лікування рефрактерної стенокардії: це хронічний стан (що триває більше 3 місяців), і характеризується наявністю стенокардії, причиною якої є недостатність коронарного кровообігу (на тлі ураження коронарних артерій), супроводжується важкими клінічними симптомами, які не вдається контролювати комбінованою медикаментозною терапією в максимально переносимих дозах при неможливості виконати реваскуляризацію міокарда (черезшкірна коронарна ангіопластика або аорто-вінцеве шунтування). За час існування цієї проблеми було запропоновано багато методик і втручань спрямованих на вирішення проблеми рефрактерної стенокардії. Ударно-хвильова терапія, лазерна реваскуляризація міокарда, стимуляція спинного мозку, клітинна та генна терапія – це деякі напрямки новітніх досліджень в проблемі рефрактерної стенокардії. На відміну від медикаментозних і хірургічних методів лікування ішемічної хвороби серця та її ускладнень, які покликані зберегти і поліпшити функцію міокарда без відновлення некротизованих областей, клітинна кардіоміопластика спрямована на створення нових клітин і стійких паростків нормально функціонуючої серцевої тканини. З огляду на те, що інфаркт міокарда, як максимальна точка проявів ішемічної хвороби серця, характеризується процесами запалення, некротичною і апоптичною загибеллю кардіоміоцитів, гіперплазією і ремоделюванням як

уражених, так і здорових ділянок міокарда, сучасна терапія повинна бути спрямована і на ці патогенетичні механізми. Кардіоміогенні властивості клітин кісткового мозку *in vivo* вперше були описані Bittner R.E. (1999). Подальші більш детальні дослідження властивостей цих клітин, виявили, що вони володіють здатністю після ішемічного ушкодження міокарда диференціюватися в клітини з фенотипом кардіоміоцитів і замінювати загиблі клітини серця господаря. Ось це привернуло увагу до клітинної терапії як вчених, так і практикуючих медиків. Одними з цих клітин є мезенхімальні стовбурові клітини. Мезенхімальні стовбурові клітини є багатообіцяючим матеріалом для клітинної як ауто- так і аlogenної трансплантації. З вище наведених даних видно, що трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин є ефективним і доступним видом клітинної кардіоміопластики. Однак, ефективність її багато в чому залежить від способу введення клітинного матеріалу. На даний момент залишаються недостатньо вирішеними питання щодо методологічних підходів до виділення ядромісних клітин кісткового мозку. Неможливо з упевненістю стверджувати, чи є нефракціоновані стовбурові клітини кісткового мозку чи інші види стовбурових клітин, які використовуються в клінічних дослідженнях, оптимальним матеріалом для лікування хворих на різні форми ішемічної хвороби серця. Неможливо оцінити повністю всі позитивні моменти застосування клітинної трансплантації, що вимагає подальшого дослідження. Таким чином, існує потреба в розробці оптимальної комбінації лікування хворих на ішемічну хворобу серця, яка ускладнена ішемічною дисфункцією міокарда, коли не має технічної можливості для первинної або повторної прямої реваскуляризації, яка дасть змогу збільшити віддалену виживаність, поліпшити якість життя і збільшити його тривалість.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальна частина роботи виконувалася на 120 крисах інбредної лінії Вістар-Кайота, вагою 200–220 г, які утримувалися в умовах віварію відділу експериментальної хірургії Державної установи «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака» НАМН України. Використання тварин в експерименті проводилось відповідно з правилами, регламентованими «Європейською конвенцією по нагляду і захисту позвоночних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європейської Співдружності від 24.11.86 р. та розпорядження МОЗ України №32 від 22.02.88 р.

Індукцію інфаркту міокарда здійснювали за розробленою нами методикою в умовах загального знеболення шляхом перев'язки передньої міжшлуночкової артерії. До експерименту залучали тільки тварин з трансмуральним інфарктом міокарда. Дослідження проводилися на 142 тваринах, які були розділені на 6 груп по 20 в кожній серії. В п'ять груп дослідження увійшли самиці (по 20 голів в кожній серії). Окрему групу становили 20 самців, яких ми використовували в якості донорів мезенхімальних

стовбурових клітин задля подальшого дослідження по Y-хромосомі хоумінга клітин в організмі.

В 1-й групі не проводили будь якого лікування, в 2-й виконували «пусті» ін'єкції в міокард в область зони ішемії, яку визначали макроскопічно, в 3-й групі проводили ін'єкції мезенхімальних стовбурових клітин в дозі 10 млн. клітин, в 4-й групі мезенхімальні стовбурові клітини вводили внутрішньовенно в такій же дозі шляхом пункції хвостової вени, в 5-й групі мезенхімальні стовбурові клітини вводили в порожнину лівого шлуночка шляхом пункції і проведення катетера крізь праву стегнову артерію (таким чином намагалися створити максимальну концентрацію стовбурових клітин у вусті коронарної судини та імітувати інтракоронарне введення).

Мезенхімальні стовбурові клітини отримували з кісткового мозку тварин, який забирали в об'ємі 0,5–1 мл. Культивування їх проводили в CO₂-інкубаторі (Joan, Франція) при 37° C і 5 % атмосфері CO₂.

В динаміці у лабораторних тварин вивчали маркери неоангіогенезу в сироватці крові. Про вміст оксиду азоту в плазмі крові судили за кількістю стабільних кінцевих метаболітів оксиду азоту, а саме – NO₂ + NO₃ (UNOX). Концентрацію фактора росту ендотелію судин (VEGF) вимірювали на дволазерному проточному флуоресцентному аналізаторі Luminex (Luminex Corporation, США) з використанням наборів реагентів Simplex ProcartaPlex™ (Affymetrix, США). Визначення рівня ендотеліну-1 в плазмі крові проводили імуноферментним методом з використанням набору Endotelin (1-21) фірми «Biomedica» (Австрія) на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 2100. Терміни дослідження були через 1, 6, 24 години після індукції патологічного стану і лікування, а також на 7 і 30 добу дослідження. Перекисне окислення ліпідів оцінювали за рівнями гаптоглобіна, церулоплазміна та ТБК-активованих продуктів. Концентрацію гаптоглобіна (Hr) в сироватці крові визначали імунотурбідиметричним методом (реагенти SENTINEL CH, Італія). Рівень церулоплазміна оцінювали модифікованим методом Равіна по здатності окислювати p-фенілендамін.

Ультразвукове дослідження серця проводили на апараті GE Vivid (США) за допомогою датчика 12 МГц. Терміни дослідження: 1 і 3 місяці експерименту. Електрокардіограму виконували на апараті ЕКО 1Т на 30 добу експерименту.

Матеріалом для морфологічних досліджень були ділянки міокарда лабораторних тварин. Гістологічне дослідження проводилося шляхом мікроскопії зі збільшенням x100–x400. Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах, товщиною 5–6 мкм непрямим методом Кунса за методикою Brosnan (1979 р.). Цифрові дані оброблені методами варіаційної статистики.

В основу клінічної частини дисертаційної роботи лягли результати обстеження, лікування та динамічного спостереження за 156 пацієнтом з рефрактерною стенокардією, які перебували на стаціонарному лікуванні у відділі невідкладної і відновної кардіохірургії Державної установи «Інститут невідкладної і відновної хірургії імені В. К. Гусака» НАМН України з 2007 по

2013 рік і в Інституті клітинної біореабілітації з 2014 по 2018 р.р. Дослідження виконувалися при дотриманні міжнародних правил біоетики, що пред'являються міжнародними організаціями та асоціаціями, протокол дослідження був схвалений локальним етичним комітетом і відповідає Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації 2010 р. перегляду.

На основі ретро- і проспективного аналізу результатів лікування 156 хворих вивчалася ефективність ремоделювання міокарда з використанням мезенхімальних стовбурових клітин у хворих на рефрактерну стенокардію, яких було розподілено на дві групи: групу порівняння склали 81 хворий, у яких в період з 2007 по 2010 рр. використовувались традиційні схеми консервативного лікування; в основну групу увійшли 75 хворих, у яких в період з 2011 по 2018 рр. проспективно вивчали запропонований лікувально-тактичний підхід. Контрольні лабораторні дослідження виконані в 17 умовно-здорових людей. Вік обстежених хворих становив у середньому $53,2 \pm 12,7$ (від 37 до 70 років). Співвідношення чоловіки/жінки становило 2,47:1. Діагноз рефрактерної стенокардії був встановлений на підставі клінічної картини, даних анамнезу, результатів неінвазивних та інвазивних і методів обстеження. За класифікацією NYHA (Нью-йоркської асоціації серця) всі пацієнти були віднесені до II–IV функціонального класу хронічної серцевої недостатності. Більша частина (61,5 %) пацієнтів страждали на стенокардію III функціонального класу.

У пацієнтів, включених у дослідження, середня фракція викиду лівого шлуночка в обох групах була нижчою за норму і становила в основній групі $29,4 \pm 6,3$ %, в групі порівняння – $30,5 \pm 6,6$ %. Середній термін від останнього інфаркта міокарда складав $3,2 \pm 1,4$ років.

В дослідження були включені переважно пацієнти з множинним ураженням серцевих артерій дистального типу, у більш ніж 50 % хворих раніше у різні строки перенесли реваскуляризацію і у них відзначалося закриття шунтів і стентів, що пояснювало важкий перебіг рефрактерної стенокардії.

Завданням другого етапу дослідження була оптимізація методики клітинної кардіоміопластики у пацієнтів з рефрактерною стенокардією, відповідно до чого нами було сформовано 5 підгруп (по 15 осіб у кожній). 1-а підгрупа – порівняння, включала пацієнтів, які отримували тільки медикаментозну терапію. 2-а підгрупа – плацебо-контроль, в якій хворим виконували «порожні» трансендокардіальні ін'єкції в міокард за допомогою електрофізіологічної навігаційної системи NOGA XR. В 3-й підгрупі виконували системне внутрішньовенне введення ауто-мезенхімальних стовбурових клітин в дозі 50 млн. В 4-й підгрупі пацієнтам інтракоронарно вводили аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини в дозі 50 млн. в компрометовані коронарні артерії. 5-а підгрупа – особи з трансендокардіальним введенням аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку в дозі 50 млн.

З 75 пацієнтів чоловіків було 66 (88 %), жінок – 9 (12 %) у віці від 46 до 70 років (в середньому $56,8 \pm 19,7$).

Найбільше число склали хворі з III функціональним класом хронічної серцевої недостатності – 47 (62,7 %), з II функціональним класом було 15 (20 %) і IV функціональним класом – 13 (17,3 %) пацієнтів.

Обстеження пацієнтів до і після введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин проводилося за розробленим протоколом. Всім хворим виконували стандартну електрокардіограму, тредміл – тест (Bruce protocol), 6-хвилинний тест з ходьбою, холтерівське моніторування електрокардіограми, трансторакальну ехокардіограму, коронарографію з вентрикулографією, електромеханічне картування лівого шлуночка з використанням навігаційної системи NOGA XR.

Лабораторне обстеження включало загальноклінічні, біохімічні методи, дослідження згортуючої системи крові, серйне визначення активності ферменту креатинфосфокінази і її MB – фракції (серцевої) в сироватці крові в ранньому післяопераційному періоді. Обстеження виконували на біохімічних автоматичних аналізаторах COBAS 3000 + (Німеччина).

Визначали вміст малонового діальдегіда, дієнових кон'югатів, активність лактатдегідрогенази, активність каталази, вміст церулоплазміну. Визначення рівня мозкового натрій-уретичного пептиду (BNP) та його попередника (NT-proBNP) в сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу за допомогою набору реактивів "BCM Diagnostics" (США). Отримані результати трактували відповідно до останніх Європейських рекомендацій (2016 р.). При цьому ймовірний діагноз серцева недостатність відповідав рівню NT-proBNP більше 400 пг/мл та рівню BNP більше 2000 пг/мл.

Рівень якості життя пацієнтів оцінювали за Міннесотським опитувальником якості життя хворих з хронічною серцевою недостатністю. Аналіз результатів проводився за принципом: 0 балів – відмінна якість життя, 105 балів – максимально погана якість.

Експлантацію кісткового мозку проводили в асептичних умовах з грудини (sternum) або з гребеня клубової кістки (crista iliaca) в кількості 20–40 мл, культивування мезенхімальних стовбурових клітин проводили в CO₂-інкубаторі (Joan, Франція) при 37 °C і 5 % атмосфері CO₂. Зміну середовища проводили кожні 3–4 доби культивування. Культури досягали первинного моношару на 8–11 добу культивування в залежності від щільності засіву первинно виділеної клітинної суспензії, індивідуальних особливостей донорів та рівня проліферативної активності клітин. Пасирування або субкультивування проводили з використанням суміші розчинів трипсину/ЕДТА (Біолот, Росія) в співвідношенні 0,05:0,02 % в ФСБ, рН 7,4 (Sigma, США). Коефіцієнт пасирування становив 1:2 або 1:3, після цього клітини культивували в CO₂-інкубаторі при тих же умовах. В результаті даних маніпуляцій отримували некоммітовану клітинну культуру мезенхімальних стовбурових клітин. Перед доставкою клітинного матеріалу в операційну проводили дослідження його якості і кількості. Для визначення клітинного складу використовували метод імуофлюоресцентної мікроскопії.

Катетерне електромеханічне картування лівого шлуночка виконували із застосуванням навігаційної системи нефлюороскопічного контролю Noga XR (Biosense Webster, США). Виконували електроанатомічну об'ємну реконструкцію лівого шлуночка з відтворенням його геометрії і послідовності електричної активації. Відображалися також анатомічні структури: фіброзні кільця мітрального і аортального клапанів (за типовою електрокардіографією і рентгенівськими орієнтирами), місце реєстрації потенціалу пучка Гіса на міжшлуночкової перегородці. Верхівку лівого шлуночка система визначала автоматично, як найвіддаленішу від аортального клапана точку. Після перевірки, в разі потреби, локалізація верхівки коректувалася мануально. За результатами електроанатомічного картування визначали форму, об'єм лівого шлуночка, оцінювали локалізацію провідної системи, орієнтовно – наявність рубців. Геометрію лівого шлуночка обов'язково порівнювали з даними вентрикулографії, яка виконувалася напередодні як етап коронарографії для верифікації даних. Наступним кроком електроанатомічна модель лівого шлуночка послідовно переводилася в режим вольтажної уніполярної і механічної (LLS). Аналіз електричної і механічної активності лівого шлуночка виконували на геометричній моделі і на розгортці. На вольтажній уніполярній мапі сегменти міокарда з амплітудою спайка нижчої за 7 мВ вважали рубцем. На механічній карті (LLS) зони з амплітудою коливань стінки меншою за 12 % від максимальної розцінювали як рубець або недостатньо васкуляризований міокард. При аналізі вольтажної уніполярної і механічної карти визначали сегменти міокарда, які життєздатні, але знаходяться в стані ішемії і амплітуда коливань яких значно знижена (це зони гібернованого міокарда). Саме вони були мішенню для клітинної терапії.

Після завершення процесу картування лівого шлуночка катетер для картування замінювали на катетер Myostar (Biosense Webster, США), призначений для трансендокардіального введення активних субстанцій. Виконували ін'єкції аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин (8–10 ін'єкцій) в міокард на глибину, яка дорівнювала половині товщини стінки, визначеної за допомогою трансоракальної ехокардіограми напередодні. Об'єм кожної ін'єкції становив 0,2 мл. Уникали ін'єкцій в зоні провідної системи серця і верхівки для запобігання таких ускладнень як блокада лівої ніжки пучка Гіса і перфорація лівого шлуночка відповідно.

Статистичну обробку даних результатів експериментального дослідження проводили на комп'ютері Pentium V Core Due 2 за допомогою ліцензійного пакету програм Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0. Для перевірки розподілу даних на нормальність використовували тест Шапіро-Уїлкі (W), що дозволило використовувати його навіть при невеликій вибірці ($n < 30$). Для виявлення істотних відмінностей між середніми значеннями різних сукупностей порівняних груп застосовували методи варіаційної статистики з використанням t-критерій Стьюдента з поправкою Бонферроні для множинних порівнянь при ймовірності помилки I роду $p = 0,05$. Дані вважали достовірними

при $p < 0,05$. Для виявлення наявності статистичного зв'язку між парою ознак застосовували кореляційний аналіз.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ МЕТОДИК КЛІТИННОЇ КАРДІОМІОПЛАСТИКИ

При дослідженні маси тіла експериментальних тварин виявлено, що у всіх досліджуваних групах різниці в порівнянні з групою контролю не було.

При вивченні рівнів вазоконстриктора ендотеліну-1, вазоділататора оксиду азоту і ендотеліального фактора росту судин в динаміці протягом 1-го місяця після моделювання інфаркту міокарда була визначена загальна закономірність для всіх трьох показників: вони досягали максимального значення до 1 доби після моделювання інфаркту міокарда у крис.

Через 1 годину після моделювання інфаркту міокарда концентрація NO зростала з $(0,58 \pm 0,03)$ до $(0,86 \pm 0,04)$ мкг/мл, подібні зміни спостерігалися і в групі з інфарктом міокарда та трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин. В подальшому через 6 годин у групі з інфарктом міокарда вміст NO зростав до $(0,92 \pm 0,03)$ мкг/мл, досягав максимального значення до кінця 1-ї доби і становив $(1,12 \pm 0,05)$ мкг/мл. На 7-у добу експерименту рівень NO знижувався і ця тенденція зберігалася до кінця дослідження, коли рівень вазоділататора досягав $(0,88 \pm 0,03)$ мкг/мл, що вірогідно перевищувало нормальні значення. У групі з інфарктом міокарда та трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин максимальний пік концентрації NO також припадав на 1-у добу і досягав $(1,26 \pm 0,03)$ мкг/мл. Надалі концентрація NO продовжувала поступово знижуватися. Через 1 місяць після моделювання інфаркту міокарда рівень NO досягав $(0,96 \pm 0,05)$ мкг/мл, що достовірно перевищувало нормальні значення. Слід зазначити, що починаючи з 7-ї доби експеримента концентрація досліджуваного показника в групі інфарктом міокарда та внутрішньовенною трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин була достовірно вищою, ніж в групі з інфарктом міокарда без лікування ($t=4,42$; $p < 0,001$). До кінця експерименту показники двох груп статистично не розрізнялися. Отримані результати свідчать про підвищення продукції NO протягом перших 7-ми діб після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин, що сприяє вазодилатації в гострому періоді інфаркту міокарда (рис.1).

При вивченні динаміки концентрації вазоконстриктора ендотеліну-1 в групі тварин з інфарктом міокарда виявлено її дворазове збільшення в порівнянні з нормою $(10,6 \pm 0,7)$ моль/мл. Максимального піку $(12,9 \pm 0,4)$ моль/мл даний показник досягав до 1-ї доби, зберігався на високому рівні впродовж 7-и діб, а до кінця експерименту повертався до меж норми. У групі тварин з інфарктом міокарда з внутрішньовенною трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин також до кінця 1-ї години експерименту відзначалося зростання рівня ендотеліну-1 до $(10,4 \pm 0,5)$ моль/мл із досягненням максимального піку до кінця 1-ї доби. Далі рівень досліджуваного показника знижувався до $(9,1 \pm 0,3)$ моль/мл і до кінця 1-го місяця спостереження не

відрізнявся від показників здорових тварин. Отримані експериментальні дані свідчили про зниження ступеня ішемії міокарда після внутрішньовенного застосування мезенхімальних стовбурових клітин, що призводило до зниження рівня такого потужного вазоконстриктора як ендотелін-1 (рис.2).

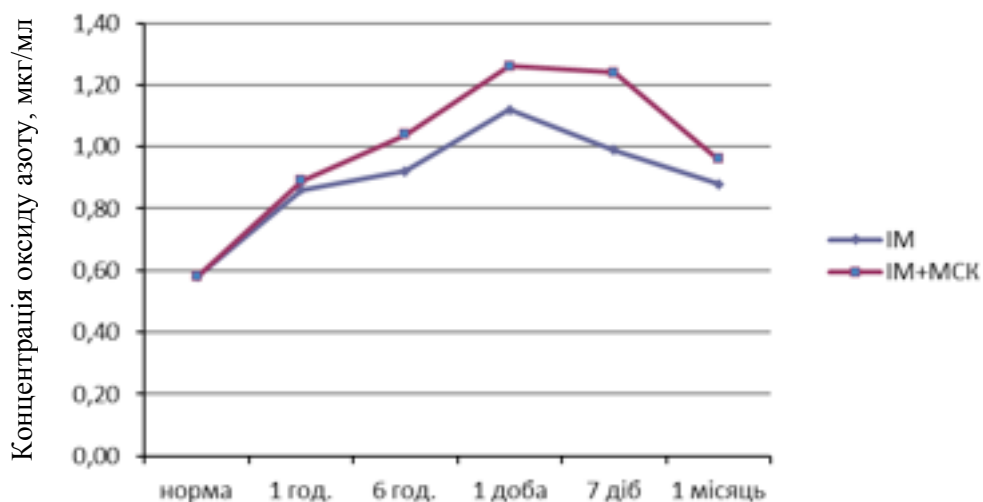


Рис. 1. Динаміка концентрації оксиду азоту в різні терміни експерименту.

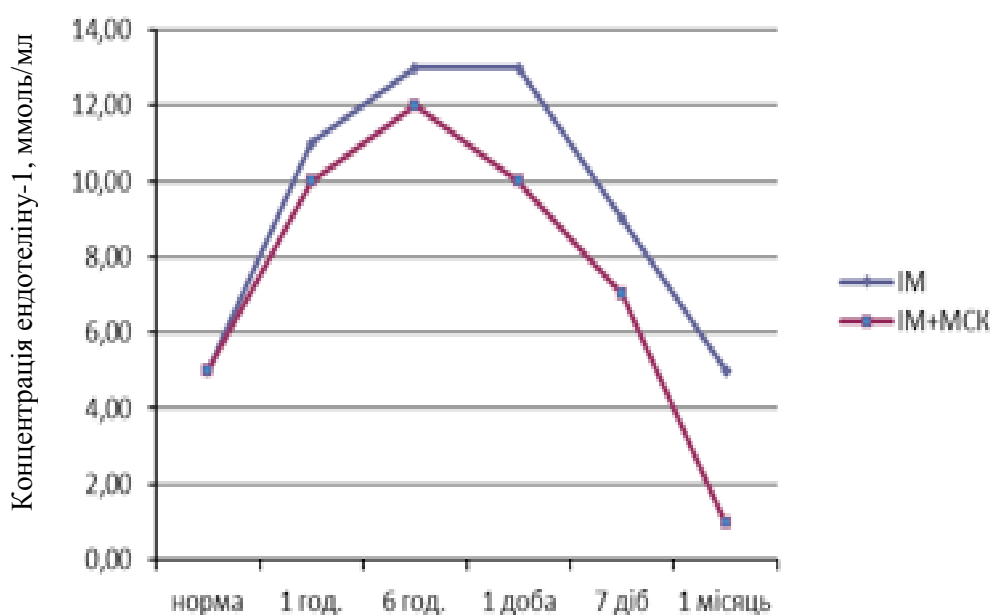


Рис. 2. Динаміка концентрації ендотеліну-1 в різні терміни експерименту.

При вивченні динаміки концентрації VEGF, який відображає інтенсивність ангиогенезу, встановлено, що до 6-ї години після індукції інфаркту міокарда даний показник не відрізнявся від контрольних значень. Через 6 годин в групі тварин з інфарктом міокарда вміст VEGF зростав до $(126,72 \pm 24,05)$ пг/мл і досягав максимального піку до кінця 1-ї доби – $(220,45 \pm 22,13)$ пг/мл. До кінця експерименту рівень VEGF знижувався до $(89,74 \pm 21,38)$ пг/мл, що не відрізнялося від нормальних значень ($t=0,91$; $p>0,05$). У групі тварин з інфарктом міокарда та трансплантацією

мезенхімальних стовбурових клітин до 6-ї години дослідження також спостерігали значне підвищення рівня VEGF до $(134,86 \pm 28,11)$ пг/мл з досягненням його максимуму до кінця 1-ї доби – $(288,22 \pm 23,46)$ пг/мл. Далі рівень VEGF незначно знижувався і до кінця експерименту становив $(132,74 \pm 19,87)$ пг/мл, що в 2 рази перевищувало нормальні значення ($t=2,8$; $p<0,05$). Слід зазначити, що починаючи з 1-ї доби і до кінця спостереження, вивчаємий показник в групі тварин з інфарктом міокарда та внутрішньовенною трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин був вищим, ніж в групі крис з інфарктом міокарда. Даний факт свідчив про те, що трансплантація мезенхімальних стовбурових клітин стимулює ангиогенез, підсилює експресію VEGF протягом всього періоду спостереження (рис.3).

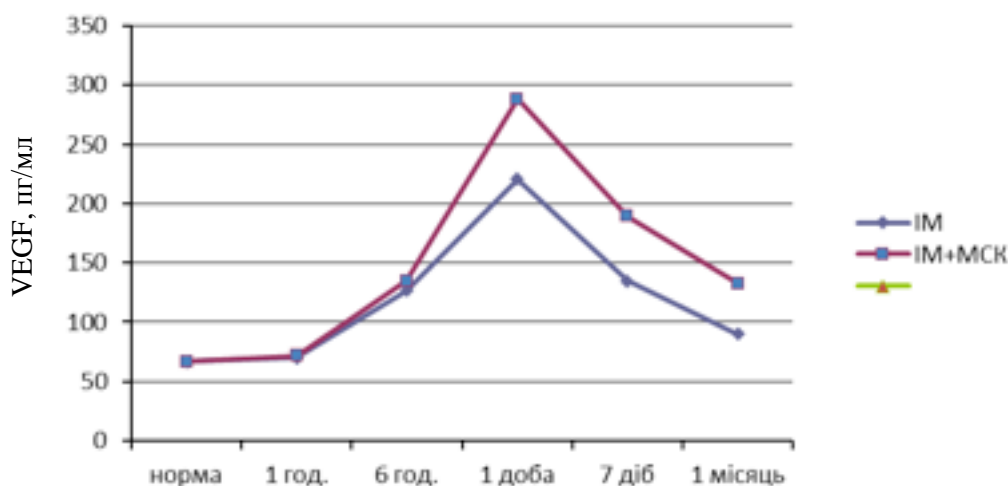


Рис. 3. Динаміка VEGF в різні терміни експерименту.

Нами за допомогою математичного аналізу був виведений коефіцієнт компенсації ішемії, який дає можливість інтегрального визначення ефективності компенсації ішемічного ураження і розраховується за формулою:

$$KKI = (NO \times 100 + VEGF) / \text{ендотелін-1}$$

У експериментальних тварин без лікування (1-а і 2-а групи) відбувалося незначне підвищення коефіцієнту компенсації ішемії до 30,13 і 30,2 у.од., що свідчило про спробу організму компенсувати альтерацію міокарда. У 3-й, 4-й і 5-й групах після клітинної кардіоміопластики мезенхімальних стовбурових клітин відбувалося значне підвищення даного показника в порівнянні з нормою – на 25,1, 20,4 і 16,2 у.од. відповідно. При цьому найкращий ефект був отриманий в 3-й групі з інтраміокардіальним введенням клітинного трансплантата.

В ході експериментального дослідження виявлено, що для ішемізованого міокарда характерним було підвищення анаеробного обміну і гіпоксичний тип метаболізму. Однак, навіть максимально посилений метаболізм був не здатний тривалий час захищати вже пошкоджений міокард – гіпоксія закономірно викликала активацію процесів перекисного окислення ліпідів. Так, при моделюванні інфаркту міокарда відбувалося накопичення ТБК-активних продуктів з $(1,09 \pm 0,1)$ до $(2,81 \pm 0,8)$ мкмоль/л ($t=2,13$, $p<0,05$). В групі тварин з

трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин даний показник дорівнював $(1,74 \pm 0,5)$ мкмоль/л, що достовірно не відрізнялося від значень, отриманих у здорових тварин ($t=1,11$, $p>0,05$). За абсолютним приростом досліджуваний показник був на $1,2$ мкмоль/л нижче, ніж при інфаркті міокарда, але вище норми, що свідчило про мінімізацію шкідливого чинника при трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин і зниження інтенсивності перекисного окислення ліпідів.

Дослідження оксидантної і антиоксидантної систем у тварин 2-ї групи показало, що рівень гаптоглобіну становив (59 ± 4) мг/дл, що набагато перевищувало норму ($t=2,1$, $p<0,05$). Концентрація церулоплазміну була в межах нормальних значень і дорівнювала $(15,2 \pm 3,6)$ мг/дл, а вміст ТБК-активних продуктів зростав до $(2,77 \pm 0,6)$ мкмоль/л. Таким чином, в 1-й і 2-й групах тварин превалювали процеси руйнування мембран клітин, що проявлялося підвищенням рівня гаптоглобіну і ТБК-активних продуктів з незмінним рівнем маркера антиоксидантної системи – церулоплазміном.

У 3-й групі тварин рівень гаптоглобіну істотно не відрізнявся від норми (50 ± 11) і (52 ± 7) , як і сироваткова концентрація ТБК-активних продуктів $(1,74 \pm 0,5)$ і $(1,88 \pm 0,7)$, при цьому рівень церулоплазміну підвищувався до $(24,3 \pm 2,8)$ мг/дл ($t=3,7$, $p<0,01$). В 4-й і 5-й групах спостерігалася аналогічна тенденція: гаптоглобін і ТБК-активні продукти були в нормі, а церулоплазмін підвищувався до $(21,5 \pm 3,1)$ і $(19,1 \pm 2,5)$ мг/дл відповідно ($t=2,5$ і $2,2$; $p<0,05$).

Таким чином, накопичення ТБК-активних продуктів і компенсаторне підвищення вмісту церулоплазміну і гаптоглобіну свідчило про зрив компенсаторних механізмів. При формуванні великої зони інфаркту міокарда відбувалося руйнування мембран кардіоміоцитів і активація перекисного окислення ліпідів, що відображалася в підвищенні ТБК-активних продуктів. Трансплантація мезенхімальних стовбурових клітин викликала значне зниження концентрації ТБК-активних продуктів. У групі тварин з трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин відзначено менш виражене підвищення білків з антиоксидантними властивостями, що, можливо, було пов'язано зі зменшенням альтерації міокарда, викликаного ішемією. Отримані дані свідчать також про можливу активації перекисного гемолізу еритроцитів, викликаного гіпоксією. Майже дворазове підвищення церулоплазміну в групі тварин з інфарктом міокарда та трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин свідчило про стимуляцію трансплантованими клітинами факторів природних систем антиоксидантного захисту. Як відомо, церулоплазмін захищає міокард від прооксидантної дії двовалентного заліза і, як наслідок, гальмує процеси перекисного окислення ліпідів. Таким чином, трансплантація мезенхімальних стовбурових клітин значно обмежує швидкість перекисного окислення ліпідів і знижує експресію антиоксидантних білків плазми крові. В експерименті за допомогою апарату ультразвукової діагностики серця для новонароджених з датчиком 12 МГц вивчали такі показники серця крис в різних дослідних групах (табл. 1).

Ультразвукові показники функціонування серця у крис з інфарктом міокарда

Показник	Група					
	контроль	1(n=20)	2(n=20)	3(n=20)	4(n=20)	5(n=20)
LVIDd, mm	6,16±0,12	7,19±0,16	7,21±0,14	6,18±0,11	6,34±0,14	6,81±0,15
LVIDs, mm	2,82±0,18	3,82±0,11	3,76±0,13	2,85±0,14	2,93±0,15	3,62±0,13
FS, %	45,3±1,7	26,8±0,8	27,3±0,7	45,0±0,9	42,6±0,12	31,2±0,9
EF, %	76,9±2,5	55,3±3,4	56,2±3,2	75,8±3,2	70,6±2,3	66,5±3,3
SV, ml	0,25±0,08	0,13±0,03	0,15±0,05	0,24±0,07	0,21±0,02	0,18±0,02

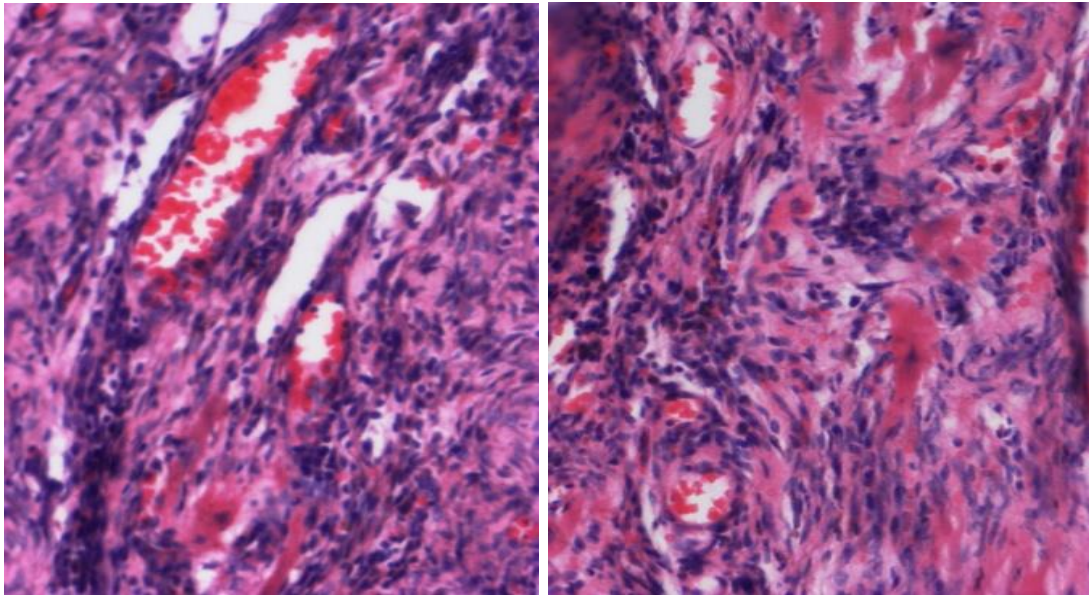
Найбільш наближеними до норми були показники, отримані у тварин 3-ї, 4-ї і 5-ї груп, при цьому в 3-й групі вони практично не відрізнялися від норми. Таким чином, найкращі показники були досягнуті в групі з інтраміокардіальними ін'єкціями мезенхімальних стовбурових клітин. Дані ультразвукової картини збігалися з даними макроскопічного дослідження віддалених після евтаназії сердець.

Якісна реакція серця на стрес-імітуюче навантаження у вигляді підвищення частоти серцевих скорочень в різних групах тварин була однаковою. Проте, при нормі збільшення на 32 уд./хв., дані максимального приросту були найбільш наближені до норми в 3-й, 4-й і 5-й групах, і складали відповідно 38, 39 і 28 уд./хв. У 1-й та 2-й групах приріст частоти серцевих скорочень склав лише 22 і 24 уд./хв. Таким чином, в групах крис з інфарктом міокарда без лікування і «порожніми» ін'єкціями в міокард компенсація необхідного кровообігу неможлива, не зважаючи на стрес, що і проявлялося клінікою серцевої недостатності.

Під час гістологічного дослідження вивчали кількість судин, сполучної тканини і їх якісну характеристику, а також відсоток збереженої маси міокарда і хоумінг мезенхімальних стовбурових клітин.

При якісному морфологічному дослідженні після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин визначалася істотна відмінність морфологічної картини в пошкодженій ділянці (рис. 4). Перш за все, в зоні інфаркту спостерігали чергування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини. Макроскопічно дані зміни підтверджувалися тим, що в жодному випадку після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин ми не спостерігали формування аневризми лівого шлуночка. При імуногістохімічному забарвленні на актин і тропонін Т найбільш чітко визначалося чергування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини. Крім того, починаючи з 21-ї доби експерименту ми візуалізували тільки поодинокі проліферуючі клітини в рубці, що свідчило про завершеність процесу рубцювання на даний термін. Слід зазначити, що привертав увагу різний стан судин у тварин, які отримували і не отримували лікування. У тварин після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин судин було більше на одиницю площі, їх просвіт був менше, вони мали добре сформовану стінку.

При використанні гібридизації *in situ* у крис-самок ми виявили в рубці, який формується, клітини з наявністю Y-хромосоми в ядрі, тобто клітини-наступники пересаджених мезенхімальних стовбурових клітин. При фарбуванні тканин самок, яким трансплантацію не виконували, ми не спостерігали ніякого забарвлення при використанні проб до Y-хромосоми (рис. 5), але контрольне забарвлення 12 хромосоми було позитивним як у самок, так і у самців.



Без лікування

Трансплантація мезенхімальних
стовбурових клітин

Рис. 4. Порівняння кількості, діаметра та структури стінки судин у тварин без трансплантації і після трансплантації. Забарвлення гематоксилином і еозином, x300.

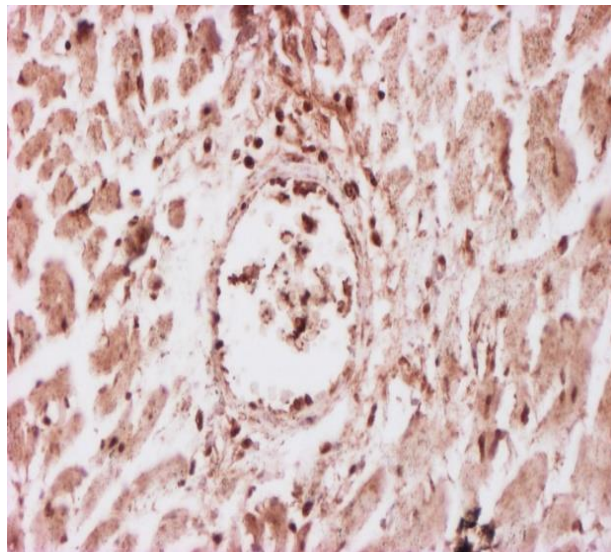


Рис. 5. Позитивний контроль (12 хромосома) в міокарді криси після трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин на 30 добу. Гібридизація *in situ* з маркером до 12 хромосоми, x150.

Клітини з Y-хромосою ми виявляли серед ендотеліальних клітин, в стінці судин, які формуються, і серед фіброblastів рубця. У сусідніх з рубцем пучках міокарда ми не виявляли Y-позитивних клітин.

Для кількісного аналізу стану рубця проводили морфометричне дослідження. Під час останнього встановлено, що трансплантація мезенхімальних стовбурових клітин при експериментальному інфаркті міокарда у крис призводила до зменшення зони інфаркту міокарда в 3 рази, при цьому сполучнотканинний компонент зони інфаркту зменшився в 1,9 рази за рахунок збільшення кількості судин в 6 разів і збереження м'язових волокон в 2,6 рази у порівнянні з тваринами 1-ї групи.

Було проаналізовано основні параметри морфометричного аналізу сердець крис в різних досліджуваних групах.

При вивченні даних показників в різних групах нами було виявлено, що питомий обсяг інфаркту був найменший в 3-й групі тварин, при цьому були досягнуті наступні дані: у тварин 3-ї групи він був менше 2-ї групи ($t=1,98$; $1,9$ і $2,5$ відповідно, $p<0,05$). В показниках питомого обсягу сполучної тканини в 3-й і 4-й групах різниці не було. Так само не було її між 4-ю і 5-ю групами, але показники 5-ї групи були меншими за показники, отримані в 3-й групі ($t=1,99$, $p<0,05$). Цікавим є той факт, що питомий обсяг судин був однаковим у тварин 3-ї, 4-ї і 5-ї груп. Кількість судин в 3-й і 4-й групах була однаковою, а в 5-й – менше, ніж в 4-й групі ($t=3,3$ і $p<0,01$) і, відповідно, в 3-й групі їх було більше в порівнянні з 5-ю групою ($t = 4,6$, $p<0,001$). Кількість судин на 100000 мкм^2 в 3-й і 4-й групах була однаковою, в 5-й групі їх було значно менше, ніж в 3-й і 4-й групах ($t=3,3$ і $4,6$ відповідно, $p<0,001$). Відсоток збережених м'язових волокон також не відрізнявся у тварин 3-ї і 4-ї груп, але в 5-й групі був менше в порівнянні з 3-ю групою ($t=1,96$, $p<0,05$).

Таким чином, клітинна кардіоміопластика при будь-якому способі введення клітинного трансплантата позитивно впливала на морфологічний субстрат серця у вигляді зменшення розмірів рубця при постінфарктному ремоделюванні, збільшення кількості новостворених судин і збільшення відсотка збережених кардіоміоцитів. Це відбувалося за рахунок хоумінга мезенхімальних стовбурових клітин в зону ішемії та спільності двох механізмів – безпосереднього диференціювання в клітини ендотелію судин серця та паракринного ефекту.

БЕЗПОСЕРЕДНІ РЕЗУЛЬТАТИ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА РЕФРАКТЕРНУ СТЕНОКАРДІЮ

Для оцінки ефективності застосування трансплантації ауто-мезенхімальних стовбурових клітин на першому етапі дослідження була простежена динаміка стану пацієнтів. В основній групі значне поліпшення загального стану відзначили 18 пацієнтів – 23,7 %, поліпшення – 38 (50 %), без змін стан залишався у 13 (17,1 %), погіршення стану відзначили 7 (9,2 %) хворих. У групі порівняння значного поліпшення загального стану в процесі лікування пацієнти не відзначали, поліпшення відзначили 34 (42,5 %),

відсутність динаміки стану – 29 (36,25 %), погіршення стану – 7 (21,25 %).

Таким чином, клітинна терапія показала значну перевагу перед медикаментозним лікуванні рефрактерної стенокардії. Через 3 місяці після лікування у хворих групи порівняння болі за грудиною залишалися у 38 (48,8 %), задишка – у 29 (36,3 %), периферичні набряки зберігалися у 9 (11,3 %) пацієнтів.

Через 6 місяців після проведення курсу консервативного лікування болі за грудиною відмічали 72 (90 %), задишку – 100 % і периферичні набряки – 16 (20 %) хворих групи порівняння. У хворих основної групи через 3 місяці після проведення клітинної терапії болі за грудиною зберігалися у 18 (23,7 %), задишка – у 11 (14,5 %), периферичні набряки – 2 (2,6 %) осіб.

Через 6 місяців болі за грудиною зберігалися у 13 (17,1 %), задишка – у 8 (10,5 %) пацієнтів. Периферичні набряки в цей термін дослідження у хворих основної групи були відсутніми. В групі порівняння після проведення курсу консервативної терапії через 3 місяці відзначалося поліпшення якості життя з $(68,3 \pm 9,5)$ до $(77,1 \pm 5,4)$ балів, проте вже через 6 місяців пацієнти відзначали його деяке зниження в середньому до $(71,3 \pm 5,8)$ балів. У той же час, пацієнтами основної групи було відзначено достовірне поліпшення якості життя в 1,4 рази. Даний показник продовжував поліпшуватися і через 6 місяців після проведення лікування перевищував вихідні значення в 1,8 рази.

При вивченні динаміки функціонального класу стенокардії в групі порівняння були отримані наступні дані. Через 3 місяці після проведення курсу медикаментозної терапії зросла кількість пацієнтів з функціональним класом 3 (з 61,25 до 77,5 %) за рахунок зменшення пацієнтів з функціональним класом 2 (з 18,75 до 10 %), кількість хворих з функціональним класом 4 зменшилася з 20 до 12,5 %. Однак, через 6 місяців на фоні оптимального медикаментозного лікування кількість хворих з функціональним класом 2 зменшилася до 0, число ж хворих з функціональним класом 4 зросло до 21,25 % (рис.6).

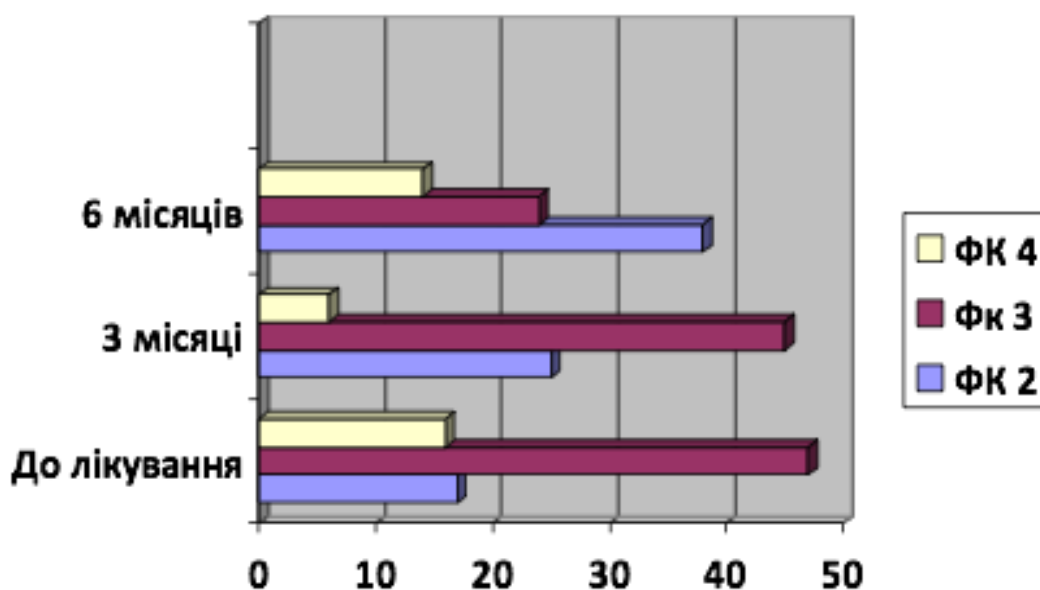


Рис. 6. Динаміка функціональних класів стенокардії у хворих групи порівняння.

Таким чином, стандартно призначена медикаментозна терапія стенокардії призводила до погіршення загального стану хворих і підвищення функціонального класу стенокардії. Зменшення проявів серцевої недостатності і зниження функціонального класу хронічної серцевої недостатності за НУНА виявлено у пацієнтів основної групи, при цьому ефект утримувався протягом 2–4 місяців ($p < 0,05$) (табл. 2), (рис.7).

Таблиця 2

Динаміка розподілу хворих з лікування

ФК	Групи	Терміни дослідження						p
		До лікування		Через 3 місяці		Через 6 місяців		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
ФК II	основна	0	0	23	30,3	11	14,5	<0,05
	порівняння	13	16,25	21	26,25	0	0	<0,05
ФК III	основна	46	60,5	35	46,1	51	67,1	<0,05
	порівняння	56	13,33	62	77,5	67	83,75	<0,05
ФК IV	основна	30	39,5	18	23,7	24	31,6	<0,05
	порівняння	11	13,75	5	6,25	13	16,25	<0,05
Усього		156	100,0	156	100,0	156	100,0	

В основній групі відзначено достовірне покращення толерантності до фізичних навантажень, що було відображено показниками тредміл-тесту, які підвищились з $(2,8 \pm 0,46)$ до $(3,8 \pm 0,417)$ Мет.од. ($p < 0,05$). Одночасно в групі порівняння відбувалося зниження показника з $(3,2 \pm 0,47)$ до $(2,3 \pm 0,48)$ Мет.од. ($p < 0,05$).

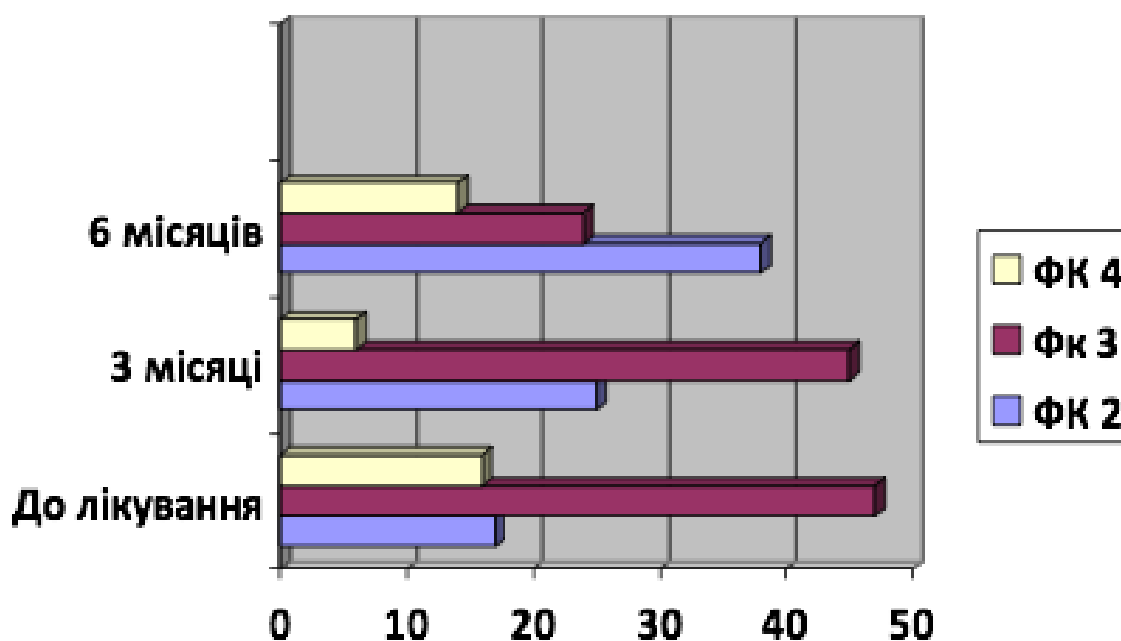


Рис. 7. Динаміка функціональних класів стенокардії у пацієнтів основної групи.

При вивченні динаміки кінцевого діастолічного об'єму лівого шлуночка, який є прогностичною ознакою перебігу серцевої недостатності, виявлено, що в основній групі через 3 місяці відбувалося зниження кінцевого діастолічного об'єму з $(244,1 \pm 24,3)$ до $(193,4 \pm 18,9)$ мл і в наступному до 6 місяців показник залишався стабільним і нижчим за вихідний, але збільшувався і наближався до початкових даних. При вивченні динаміки фракції викиду лівого шлуночка за даними ультразвукової діагностики в основній групі відзначалося зростання показника в термін 3 місяці з $(33,8 \pm 3,6)$ до $(42,8 \pm 4,8 \%)$ з подальшим незначним зниженням. Таким чином, клітинна трансплантація підвищувала фракцію викиду лівого шлуночка. У пацієнтів групи порівняння будь-яка динаміка фракція викиду лівого шлуночка була відсутня.

Частота денних ангінозних епізодів у хворих основної групи протягом 6-місячного періода знизилася з $(2,8 \pm 4,1)$ до $(1,0 \pm 1,5)$ і становила $(0,6 \pm 1,2)$ після 12 місяців ($p=0,022$). Відповідно, частота прийому сублінгвальних нітратів знизилась з $(1,8 \pm 2,8)$ таблетки на початку дослідження до $(0,5 \pm 1,2)$ таблетки на добу через 6 місяців і до $(0,5 \pm 1,3)$ таблетки на добу через рік після процедури трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин ($p=0,043$).

У хворих групи порівняння через 3 місяці відзначалася хибнопозитивна динаміка, яка нівелювалася через 6 місяців. Ускладнень при внутрішньовенній трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин відмічено не було. В терміни до 6 місяців дослідження в основній групі виживаність пацієнтів склала 100 %. В групі порівняння за піврічний період померло 3 (3,75 %) пацієнти.

У 9 (11,8 %) хворих основної групи внутрішньовенну трансплантацію аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин використовували в якості першого етапу лікування ішемічної хвороби серця для підвищення скоротливої здатності лівого шлуночка. У цих хворих протипоказанням до виконання аорто-вінцевого шунтування була виражена систолічна дисфункція лівого шлуночка і фракція викиду лівого шлуночка складала в середньому $(30,6 \pm 2,3) \%$. Через 3 місяці після проведеного лікування було відмічено підвищення показника в середньому до $(46,8 \pm 3,8) \%$. На фоні стабілізації скоротливої функції лівого шлуночка хворі були оперовані в терміни 4–6 місяців після трансплантації ауто-мезенхімальних стовбурових клітин.

В 3 випадках виконували аорто-вінцеве шунтування-1, в 4 – аорто-вінцеве шунтування-2 і у 4 хворих – аорто-вінцеве шунтування-3. Перебіг післяопераційного періоду в усіх випадках був гладким, летальних випадків зафіксовано не було. Середні терміни перебування в стаціонарі становили $(10,3 \pm 2,2)$ ліжко-діб. 15 пацієнтам групи порівняння і 15 пацієнтам основної групи виконували катетерне електромеханічне картування лівого шлуночка за допомогою навігаційної системи Noga XR (Cordis, США) після письмового отримання згоди на дослідження. В основній групі за результатами картування лівого шлуночка у всіх пацієнтів відзначалася позитивна динаміка, при цьому у 1 (6,7 %) відзначено значне поліпшення (рис.9).

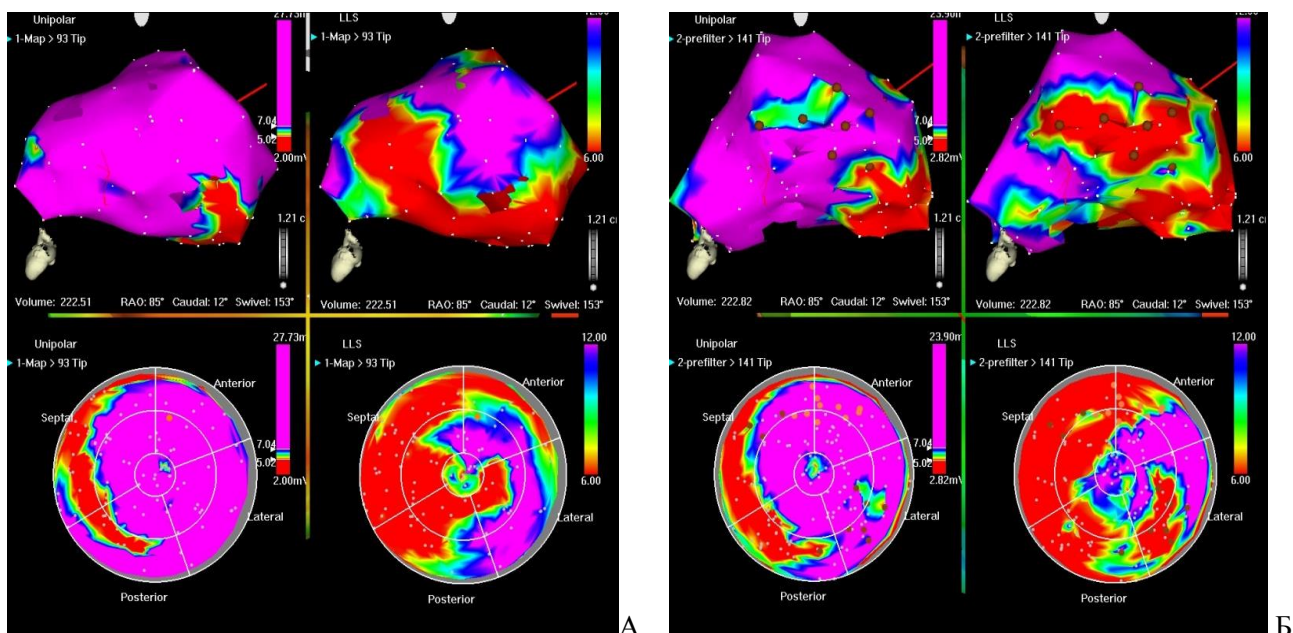


Рис. 8. Електромеханічна карта пацієнта М., 58 років (група порівняння). Діагноз: ішемічна хвороба серця: стенокардія напруги ФК 2, постінфарктний і атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після аорто-коронарного шунтування-3 в 2007 р. Оклюзія венозних шунтів. Хронічна серцева недостатність 1 ст. Панель А: вихідне картування – середнього розміру зона гіпокінеза в латеральних відділах (гібернований міокард, червоний колір). Панель Б: контрольне картування: зменшилась зона гібернованого міокарда в зоні ін'єкції ауто-мезенхімальних стовбурових клітин в порівнянні з вихідною картою.

У групі порівняння через 3 місяці виявлена незначна позитивна динаміка у 9 (60 %) пацієнтів, у 6 пацієнтів (40 %) за результатами картування не відбулося ніяких змін в порівнянні з вихідним картуванням (табл. 3).

Таблиця 3

Ефективність застосування ауто-мезенхімальних стовбурових клітин за даними електромеханічного картування лівого шлуночка

Групи хворих	Ефективність лікування			Всього
	Без змін	Покращення	Значне покращення	
Порівняння	9	6	–	15
Основна	–	14	1	15
Всього	4	10	1	30

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ РІЗНИХ СПОСОБІВ ВВЕДЕННЯ АУТОЛОГІЧНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН В ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА РЕФРАКТЕРНУ СТЕНОКАРДІЮ

Метою другого етапу дисертаційного дослідження було визначення оптимального способу трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин. 15 пацієнтам 2-ї підгрупи виконували трансендокардіальні

«порожні» ін'єкції, пацієнтам 5-ї підгрупи проводили трансендокардіальні ін'єкції аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин; 15 хворим після виконання коронарографії у вустя коронарних артерій за допомогою катетерів Judkins Left та Judkins Right вводили аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини (патент України №56597). Загальна кількість введених клітин – 50 млн. Всім пацієнтам на даному етапі дослідження виконували катетерне електромеханічне картування лівого шлуночка за допомогою навігаційної системи Noga XR (Cordis, США). Під час процедур застосовували також електрофізіологічну лабораторію Prucka Engineering (CardioLab 6,5) (GE, США).

Хворим 5-ї підгрупи після завершення процесу картування лівого шлуночка встановлювали катетер Myostar (Biosense Webster, США), призначений для інтраміокардіального введення активних агентів. Виконували ін'єкції аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку в зони гібернованого міокарда, при цьому уникаючи ін'єкцій в область верхівки, мітрального клапана через високий ризик перфорації і в область реєстрації потенціалів пучка Гіса через ризик розвитку блокади (патент України №43994). Для досягнення максимальної ефективності ін'єкцій кінчик катетера встановлювали перпендикулярно стінці лівого шлуночка під контролем навігаційної системи і флюороскопії. При стабільності положення катетера висували голку і проводили введення клітин (ін'єкції). Швидкість ін'єкцій не перевищувала 0,1 мл за 15 с. Зазвичай виконували 8–10 ін'єкцій по 0,2 мл кожна. Загальна кількість клітин, що вводились була 50 млн.

В процесі проведення другого етапу дисертаційного дослідження нами була висунута гіпотеза, що в місці ін'єкцій міокарда відбувається процес неоваскулогенеза, що може сприяти деякому поліпшенню загального стану хворих і зниженням функціонального класу стенокардії.

При вивченні ефективності застосування різних способів трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на другому етапі дисертаційного дослідження було виявлено, що при внутрішньовенному введенні (3-я підгрупа) 7 пацієнтів (46,7 %) відзначили поліпшення, по 3 пацієнта (20 %) характеризували свій стан як значно краще і без змін, також 2 хворих (13,3 %) відзначили погіршення загального стану. При трансендоміокардіальному введенні аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин (5-а підгрупа) ускладнень, як то злякисні аритмії, інфекційні ускладнення і емболії не було відмічено. При медикаментозному лікуванні (1-а підгрупа) поліпшення стану відзначили лише 4 пацієнти (26,7 %), без змін – 6 (40 %) і погіршення – 1 (6,7 %) хворий. Значного покращення в цій підгрупі не відмітив жоден з пацієнтів. В терміни дослідження 3–6 місяців повторна госпіталізація знадобилась 7 (46,75 %) з них. В ці терміни летальність склала 6,7 % (1 хворий помер на фоні прогресування явищ хронічної серцевої недостатності). У 2-й підгрупі ендоміокардіальних порожніх ін'єкцій поліпшення стану відзначило 9 (60 %) осіб, без змін – 5 (33,3 %) і погіршення – 1 (6,7 %) хворий, значного поліпшення стану не відмічав жоден пацієнт.

Ускладнень у вигляді злякисних аритмій і перфорацій міокарда ми не спостерігали. Однак, в ранні терміни спостереження один хворий (6,7 %) потребував повторної госпіталізації.

Серед пацієнтів 4-ї підгрупи після інтракоронарного введення клітинного трансплантату поліпшення загального стану відзначили 9 пацієнтів (60 %), без змін стан лишався у 5 (33,3 %) і погіршення – 1 (6,7 %) пацієнта. У 1 хворого (6,7 %) ранній посттрансплантаційний період ускладнився розвитком інфаркта міокарда, який, вірогідно, був пов'язаний з мікротромбозом судини і був пролікований консервативно. В 1 випадку (6,7 %) післяопераційний період ускладнився формуванням пульсуючої гематоми в зоні доступу на стегні, що потребувало хірургічного посібника – ушивання дефекта стегневої артерії. Таким чином, загальна кількість ускладнень у хворих 4-ї підгрупи становила 13,3 %. У зв'язку з високою кількістю післяопераційних ускладнень в подальшому ці хворі, були виключені з дослідження.

При застосуванні трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин в двох основних підгрупах значне поліпшення загального стану відзначили 7 (23,3 %) пацієнтів, поліпшення – 15 (50 %), без змін – 5 (16,7 %), погіршення – 3 (10 %) хворих. В контрольних групах, як вже зазначалося, значного поліпшення загального стану пацієнтів не було, поліпшення відзначено у 13 (43,3 %), без змін – у 11 (36,7 %), погіршення – у 6 (20 %) пацієнтів. Отже, нами було відзначено явну перевагу клітинної трансплантації перед медикаментозним лікуванням стенокардії. Поліпшення загального стану у 60 % пацієнтів з ендокардіальними «порожніми» ін'єкціями, на відміну від медикаментозного лікування (26,7 %), можна пояснити ангіогенним фактором внаслідок механічного пошкодження міокарда.

У досліджуваних підгрупах виявлено статистично достовірне ($p < 0,05$) поліпшення якості життя (рис. 9) по Міннесотському опитувальнику (MLHFQ).

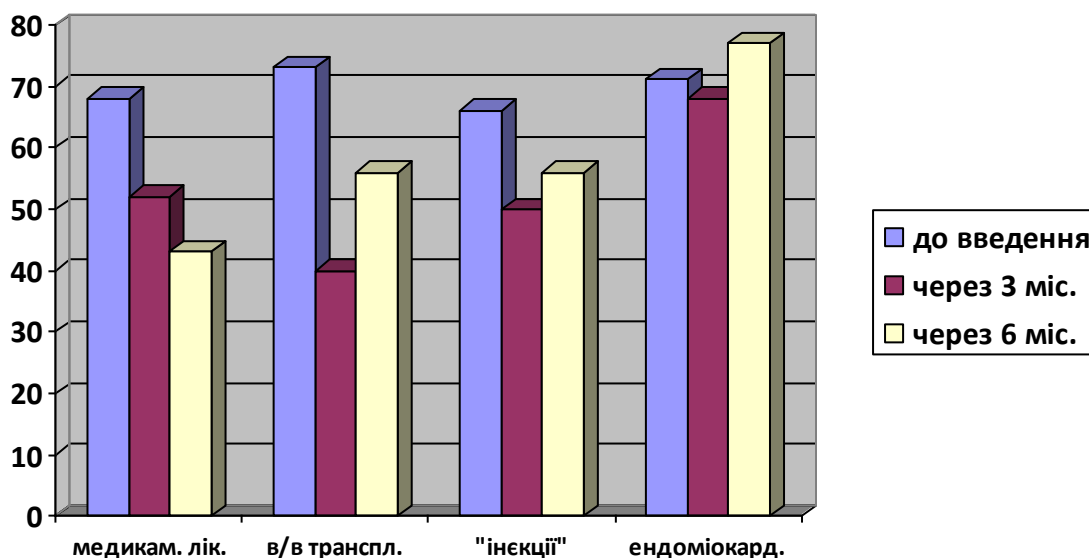


Рис. 9. Динаміка якості життя (в балах) по MLHFQ.

У підгрупі трансендоміокардіального введення – на 25 і 16 балів, в підгрупі внутрішньовенного введення – на 33 і 17 балів, в підгрупі з «порожніми» ендоміокардіальними ін'єкціями відзначено поліпшення якості життя на 16 і 10 балів, відповідно через 3 і 6 місяців, в той час як в підгрупі медикаментозної терапії за 3 місяці якість життя практично не змінилося, а через 6 місяців погіршилося на 6 балів.

Зменшення проявів хронічної серцевої недостатності і зниження функціонального класу за NYHA нами було виявлено у пацієнтів підгруп дослідження, при цьому в підгрупі трансендоміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин ефект утримувався протягом 3–6 місяців ($p < 0,05$), а при внутрішньовенному введенні – дещо менше: 2–4 місяці ($p < 0,05$) (табл. 4).

Таблиця 4

Динаміка розподілу хворих на ішемічну хворобу серця за функціональним класом серцевої недостатності по NYHA через 3 і 6 місяців після лікування

ФК	Шлях введення	До введення		Через 3 місяці		Через 6 місяців		P
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
II	трансендоміокардіальний	3	5,0	6	10,0	7	11,66	<0,05
	внутрішньовенний	0	0	7	11,66	4	6,66	<0,05
	«пусті» ін'єкції	2	3,33	4	6,66	3	5,0	>0,05
	медикаментозна терапія	1	1,66	2	3,33	0	0	<0,05
III	трансендоміокардіальний	9	15,0	8	13,33	6	10,0	<0,05
	внутрішньовенний	9	15,0	5	8,33	6	10,0	<0,05
	«пусті» ін'єкції	9	15,0	9	15,0	9	15,0	>0,05
	медикаментозна терапія	8	13,33	9	15,0	8	13,33	<0,05
IV	трансендоміокардіальний	3	5,0	1	1,66	2	3,33	<0,05
	внутрішньовенний	6	10,0	3	5,0	5	8,33	<0,05
	«пусті» ін'єкції	4	6,66	2	3,33	3	5,0	>0,05
	медикаментозна терапія	6	10,0	4	6,66	7	11,66	<0,05
Всього		60	100,0	60	100,0	60	100,0	

Вивчення динаміки толерантності до фізичного навантаження, показало, що через 6 місяців при трансендокардіальному введенні клітинного трансплантата відбувалося збільшення показника тредміл-теста з $(2,4 \pm 0,82)$ до $(4,2 \pm 0,95)$ Мет.од. ($p < 0,05$), тобто практично в 2 рази. При вивченні динаміки кінцево діастолічного об'єму були отримані наступні дані. У групі з трансендокардіальним введенням через 3 місяці відбувалося зменшення показника з $(248,5 \pm 22,3)$ до $(194,3 \pm 26,4)$ мл, в подальшому через 6 місяців даний показник залишався стабільним і був меншим в порівнянні з початком дослідження ($p > 0,05$). У підгрупах з внутрішньовенним та інтракоронарним введенням спостерігалася подібна тенденція: кінцево діастолічний об'єм через 3 місяці знизився з $(244,1 \pm 24,3)$ до $(193,4 \pm 18,9)$ мл і потім до 6 місяців залишався стабільним і наближався до вихідних даних (табл. 5).

Динаміка кінцево діастолічного об'єму лівого шлуночка (мл) (M±m)

Вид терапії	Перед введенням	Через 3 місяці	P1	Через 6 місяців	P2	P3
Трансендоміокардіальне введення ауто-МСК (n=15)	248,5±22,3	194,3±26,4	<0,05	200,8±22,8	>0,05	<0,05
Внутрішньовенне введення ауто-МСК (n=15)	244,1±24,3	193,4±18,9	<0,05	204,3±45,6	>0,05	>0,05
Ітракоронарне введення (n=15)	246,5±21,8	195,4±16,9	<0,05	209,3±41,6	>0,05	>0,05
Медикаментозна терапія (n=15)	251,4±28,1	248,6±42,1	>0,05	268,3±25,6	>0,05	>0,05
«Пусті» ін'єкції (n=15)	246,6±22,8	210,1±33,4	>0,05	212,3±34,7	>0,05	>0,05

Примітки: P1 – достовірність між початковими показниками і через 3 місяці; P2 – достовірність між показниками через 3 і 6 місяців; P3 – достовірність між початковими показниками і через 6 місяців.

При вивченні динаміки фракції викиду лівого шлуночка за даними ультразвукової діагностики в підгрупі з трансендокардіальним введенням клітинного трансплантата відзначалося зростання досліджуваного показника в термін 3 місяці з (41,3±3,2) до (49,3±4,6)%, до терміну 6 місяців посттрансплантаційного періоду він залишався стабільним. У підгрупі з внутрішньовенним введенням трансплантата також зазначалося зростання фракції викиду лівого шлуночка з (33,8±3,6) до (42,8±4,8) % в 3-місячний термін, в подальшому показник поступово знижувалася і до 6 місяців наближалася до вихідних показників. Подібну тенденцію ми спостерігали у хворих 4-ї підгрупи. Таким чином, клітинна трансплантація незалежно від способу введення підвищує фракцію викиду лівого шлуночка, більш істотно в підгрупі з трансендокардіальним способом введення. У підгрупах медикаментозного лікування і «порожніх» ін'єкцій була відсутня будь-яка динаміка фракції викиду лівого шлуночка (табл. 6).

Відомо, що тимідінфосфорілаза відіграє ключову роль у відновленні нуклеозидів після деградації ДНК/РНК. Хоча реакція, яку він каталізує між тимідіном/дезоксирідіном та їх відповідними основами, є зворотньою, функція фермента, в першу чергу, катаболічна. Нещодавні дослідження показали, що тимідінфосфорілаза також приймає участь в ангиогенезі. Встановлено також, що

тімідінфосфорилаза практично ідентична тромбоцитарному фактору роста ендотеліальних клітин (PD-ECGF).

Таблиця 6

Динаміка фракції викиду лівого шлуночка (%) (M±m)

Вид терапії	Перед введенням	Через 3 місяці	P1	Через 6 місяців	P2	P3
Трансендоміокардіальне введення ауто-МСК (n=15)	41,3±3,2	49,3±4,6	<0,05	48,9±3,4	>0,05	<0,05
Внутрішньовенне введення ауто-МСК (n=15)	33,8±3,6	42,8±4,8	<0,05	40,3±5,1	>0,05	>0,05
Інтракоронарне введення (n=15)	35,8±3,5	43,8±4,5	<0,05	42,3±4,2	>0,05	>0,05
Медикаментозна терапія (n=15)	42,4±4,2	40,3±3,8	>0,05	36,5±3,8	>0,05	>0,05
«Пусті» ін'єкції (n=15)	36,5±6,1	42,2±5,2	>0,05	38,8±4,2	>0,05	>0,05

Примітки: P1 – достовірність між початковими показниками і через 3 місяці, P2 – достовірність між показниками через 3 і 6 місяців, P3 – достовірність між початковими показниками і через 6 місяців.

Нами вивчався рівень тімідінфосфорилази, як маркера ангиогенезу на початку дослідження, через 3 і 6 місяців після лікування. До початку лікування істотних відмінностей між вмістом тімідінфосфорилази (катабол.) та тімідінфосфорилази (анабол.) у хворих досліджуваних підгруп виявлено не було. Через 3 місяці після лікування відмічено підвищення тімідінфосфорилази (катабол.), найбільш виражене в підгрупах 2 і 5 (тобто після виконання ін'єкцій в міокард) – з (246,51±34,54) до (385,7±32,8). В ці терміни дослідження відмічено підвищення рівня тімідінфосфорилази (анабол.) в підгрупі внутрішньовенного введення до (169,4±13,5) і деяке зниження в підгрупах 2 і 5 до (145,4±9,3). В 6-ти місячний термін дослідження рівень ТМФ (катабол.) в контрольній підгрупі наближався до вихідних даних і дещо знижувався у хворих після внутрішньовенної трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин – до (345,9±28,6) і в підгрупах хворих з трансендоміокардіальними ін'єкціями – до (365,9±26,4). В цей термін дослідження у всіх хворих відмічено зниження рівня тімідінфосфорилази (анабол.), при цьому значення істотно не відрізнялися між групами (p>0,05).

Отримані дані підтверджують висунуту нами гіпотезу щодо стимуляції неоангиогенезу шляхом ін'єкцій в міокард в тримісячний термін дослідження. При цьому сама ін'єкція є фактором альтерації, яка ініціює процес.

**ВІДДАЛЕНІ РЕЗУЛЬТАТИ КЛІТИННОЇ КАРДІОМІОПЛАСТИКИ ПІСЛЯ
ТРАНСЕНДОКАРДІАЛЬНОМУ І ВНУТРИШНЬОСУДИННОМУ ВВЕДЕННІ
СТОВБУРОВИХ КЛІТИН**

Віддалені результати лікування в терміни від 6 місяців до 3 років після проведеного лікування були вивчені нами у 45 пацієнтів. З основної групи – було 30 пацієнтів (15 хворим аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини

вводили внутрішньовенно, в 15 випадках застосовували трансендоміокардіальні ін'єкції аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини), з групи порівняння – 15 хворих. Всім цим пацієнтам оцінювали функціональний клас стенокардії, ступінь серцевої недостатності, виконували трансторакальну ехокардіографію, електромеханічне картування лівого шлуночка.

Прийом сублінгвальних нітратів у хворих групи контролю за період спостереження залишався стабільним (їх приймали усі хворі). Серед хворих підгрупи внутрішньовенного введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин через 6 місяців після лікування їх приймали 8 (53,3 %) пацієнтів, через 12 місяців після трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин їх кількість зменшилась до 6 (40 %), а через 36 місяців збільшилась до 9 (60 %) хворих ($p=0,02$). Серед пацієнтів, яким використовували трансендоміокардіальне введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин, в 6-місячний термін спостереження кількість хворих, які приймали сублінгвальні нітрати становила 7 (46,6 %). Через рік кількість хворих знизилась до 40 % і через три роки знов становила 46,6 % ($p=0,01$).

Згідно з аналізом проявів хронічної серцевої недостатності, у хворих дослідних груп в терміни 6 і 12 місяців були отримані задовільні віддалені результати. В групі порівняння кількість хворих з хронічною серцевою недостатністю IV функціонального класу через 6 місяців збільшилась з 20 до 46,7 %, через 12 місяців спостереження – до 60 %. При цьому через 12 місяців від початку дослідження хворих з хронічною серцевою недостатністю II функціонального класу не було взагалі, а кількість хворих з хронічною серцевою недостатністю III функціонального класу складала 40 % (до початку лікування таких хворих було 60 %) ($p\leq 0,05$). В підгрупі хворих, у яких використовували внутрішньовенний спосіб введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин, через 6 місяців хронічна серцева недостатність II функціонального класу була виявлена у 26,7 %, через 12 місяців – у 20 % випадків. У хворих, яким аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини вводили трансендоміокардіально, кількість таких хворих через 6 місяців збільшилась з 20 до 46,7 %, але через 12 місяців знизилась до 26,7 % ($p\leq 0,05$).

Хронічна серцева недостатність III функціонального класу у хворих з внутрішньовенним методом введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин до початку лікування спостерігалась у 60 %, через 6 місяців таких хворих було 40 %, а через рік цей показник знову збільшився до 66,7 %. Серед хворих, яким ауто-мезенхімальні стовбурові клітини вводили трансендоміокардіально, хронічна серцева недостатність III функціонального класу до лікування спостерігалася у 60 %, через 6 місяців їх кількість зменшилась до 40 % і через 1 рік спостереження знов збільшилась до 60 %.

Кількість хворих з хронічною серцевою недостатністю IV функціонального класу після внутрішньовенного введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин знизилась з 40 до 13,3 % ($p\leq 0,05$), після

трансендоміокардіального – з 20 до 13,3 % через 12 місяців після лікування ($p \leq 0,05$). У групі порівняння хронічна серцева недостатність III функціонального класу через рік лікування була у 40 % хворих і IV функціонального класу – у 60 % пацієнтів.

За даними трансторакальної ехокардіографії після внутрішньовенного введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин через 6 місяців після лікування відзначалося підвищення фракції викиду лівого шлуночка з $(31,3 \pm 3,2)$ до $(39,3 \pm 4,6)$ %, у хворих після трансендоміокардіального – з $(31,2 \pm 7,1)$ до $(37,2 \pm 4,2)$ % ($p < 0,05$), яка в строк до 12 місяців починала знижуватися. При аналізі морфометричних показників лівого шлуночка, отриманих при трансторакальній ехокардіограмі, виявили, що через 6 місяців відбувалося збільшення кінцевосистолічного об'єму і кінцеводіастолічного об'єму лівого шлуночка серця, а також ударного об'єму. Поряд із цим, у хворих групи порівняння усі досліджувані показники мали тенденцію до поступового зниження.

В даний період часу у пацієнтів знижувались дози кардіотропних препаратів, відзначалося підвищення толерантності до фізичного навантаження (по даним тредміл-теста). Так, у хворих з внутрішньовенним введенням аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин тредміл-тест покращився з $(2,4 \pm 0,86)$ до $(2,9 \pm 0,74)$ Мет.од. через 6 місяців, але через рік знов дещо погіршився до $(2,6 \pm 0,77)$ Мет.од. ($p \leq 0,05$). Тредміл-тест після трансендоміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин через 6 місяців покращився з $(2,5 \pm 0,75)$ до $(2,7 \pm 0,81)$ Мет.од., але через рік після виконання процедури знов зменшився і дорівнював $(2,5 \pm 0,75)$ Мет.од. ($p \leq 0,05$).

При контрольному картуванні лівого шлуночка амплітуда уніполярного сигналу після трансендоміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин через 6 місяців збільшилась з 7,8–8,7 мВ до 9,0–9,4 мВ в передньо-латеральній зоні та з 5,3–12,0 до 7,9–14,1 мВ в задньо-септальній, що свідчило про збільшення маси живого міокарда. Але через 12 місяців визначалася негативна динаміка у порівнянні з вихідними результатами. В усіх відділах лівого шлуночка зменшувалась амплітуда аж до формування рубцевої тканини: в передньо-латеральній зоні до 4,2–4,9 мВ, в задньо-септальній – до 7,7–7,9 мВ, в передньо-септальній – до 3,7–5,9 мВ.

Таким чином, проведене дослідження свідчить, що трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин є ефективною протягом перших 12 місяців після проведення процедури. В ці терміни доцільно виконувати повторне введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин, що нами було виконано у 14 (46,7 %) хворих.

Була проведена порівняльна оцінка якості життя хворих на рефрактерну стенокардію через 1 рік після медикаментозного лікування і трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин. Середні показники якості життя у пацієнтів групи порівняння через 1 рік після медикаментозного лікування в порівнянні з пацієнтами, яким застосували клітинну

трансплантацію, показник фізичної активності був знижений на 28,1 %, рольові обмеження внаслідок фізичних проблем загального здоров'я знижені на 3,5 %, а всі інші показники були знижені незначно (табл. 7).

Таблиця 7

Показники якості життя за даними опитувальника у досліджуваних хворих

Показник	Групи	
	Група клітинної терапії (n=30)	Група порівняння (n=15)
Больовий фактор	6,8 %	7,5 %
Соціальна активність	42,5 %	23,3 %
Психічне здоров'я	36,0 %	16,8 %
Рольові обмеження внаслідок емоційних проблем	42 %	23 %
Життєздатність	23,6 %	20,0 %
Загальне відчуття здоров'я	18,8 %	16,6 %

Загальна летальність на етапі 36-місячного контролю серед хворих, яким застосовували трансплантацію аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин, становила 13,3 % (померло 4 хворих), при цьому в 12-місячний термін летальних випадків не було. 2 пацієнта вмерли від «позасерцевих» причин (гостра шлунково-кишкова кровотеча, гостре порушення мозкового кровообігу).

В зазначені терміни дослідження в групі порівняння померло 7 (46,7 %) хворих. При цьому через 12 місяців від прогресування явищ серцевої недостатності вмерло 2 (13,3 %) пацієнта, через 36 місяців – 5 (33,3 %). При цьому лише один (6,7 %) хворий помер від гострого порушення мозкового кровообігу. Таким чином, серед всіх причин летальності в контрольній групі переважала серцева недостатність.

Було встановлено, що термін виживаності в групі хворих, які лікувалися із застосуванням клітинних технологій, був вищим і становив 35 (18–61) місяців, у порівнянні з 12 (0,72–50) місяцями у групі медикаментозного лікування ($p=0,033$).

Таким чином, трансендоміокардіальне введення ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку з використанням навігаційної системи NOGA є безпечною клінічною процедурою. Через 3–6 місяців після введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин підвищувалась якість життя пацієнтів, знижувалась потреба в кардіотропних препаратах, зростала фракція викиду лівого шлуночка, підвищувалась толерантність до фізичних навантажень.

За даними 6-хвилинного теста ходьби після імплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на етапах контролю 3 – 6 – 12 місяців відстань, яку проходили хворі, достовірно зростала. В перші 12 місяців прогресування серцевої недостатності не спостерігалось в жодного з пацієнтів,

функціонального класу стенокардії напруги (CCS) і хронічної серцевої недостатності (NYHA) статистично значимо покращились у більшості пацієнтів. Відповідно зменшилась кількість хворих, які приймали сублінгвальні нітрати.

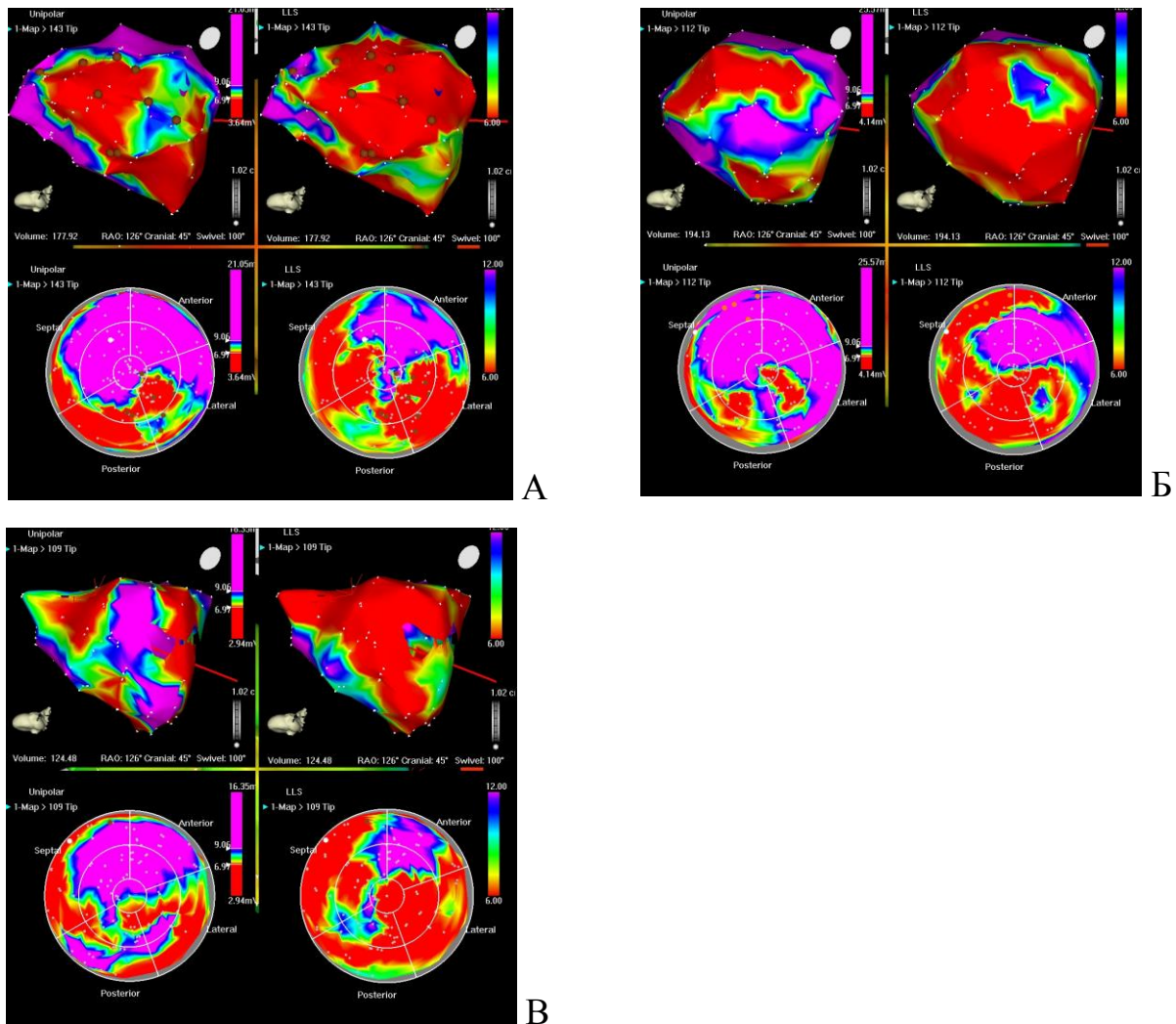


Рис. 10. Електромеханічна карта пацієнта Л., 59 років. Діагноз: ішемічна хвороба серця: стенокардія напруги функціональний клас 3, постінфарктний і атеросклеротичний кардіосклероз. Стан після коронарного шунтування в 2004 р. Оклюзія венозних шунтів. Стан після ін'єкцій аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин в 2008 р. хронічна серцева недостатність 2А ст. Артеріальня гіпертензія. Панель А: вихідне картування – середнього розміру зона гіпокінеза в латеральних відділах (гібернований міокард, червоний колір). Панель Б: контрольне картування через 6 місяців: зменшилась зона гібернованого міокарда в зоні ін'єкцій ауто-мезенхімальних стовбурових клітин в порівнянні з вихідною картою. Панель В: контрольне картування через 5 років: результати ідентичні до вихідного картування.

Протягом 12-місячного спостереження показники фракції викиду лівого шлуночка, кінцевого діастолічного об'єму лівого шлуночка та ударного об'єму

під час ехокардіографії, залишалися практично незмінними. По даним електромеханічного картування та іншим непрямим показникам відзначали ознаки збільшення об'єму живого міокарда, що може бути ознакою покращення перфузії міокарда в зонах гібернованого міокарда лівого шлуночка.

Позитивний клінічний ефект утримується протягом 12–24 місяців з поступовим його зменшенням до 36 місяців. Але можливе проведення повторної процедури задля відновлення ефекту клітинної кардіоміопластики. Повторне введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин ми виконували 14 пацієнтам. У них було клінічно відмічено відновлення ефекту клітинної кардіоміопластики, і в подальшому, в строк 12 місяців позитивний ефект знову зникав.

В ряді випадків трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин у хворих з рефрактерною стенокардією використовувався як перший етап лікування ішемічної хвороби серця для підвищення скоротливої здатності лівого шлуночка. В подальшому (через 6 місяців) хворим виконували шунтуючі операції на коронарних артеріях.

Слід зазначити, що трансендокардіальний шлях доставки клітинного трансплантата дозволяє досягти кращих результатів, ніж інтракоронарне і внутрішньовенне введення, ймовірно, за рахунок суперселективного введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин в зони гібернованого міокарда (рис.10).

ВИСНОВКИ

В дисертації представлено новий напрямок у рішенні актуальної науково-практичної проблеми сучасної медицини – поліпшення безпосередніх і віддалених результатів лікування хворих на рефрактерну стенокардію шляхом застосування клітинної трансплантації на підставі вивчення патогенетичних механізмів впливу на міокард і показників метаболізму.

1. Експериментальними дослідженнями доведено, що клітинна кардіоміопластика, незалежно від способу введення стовбурових клітин, покращує структуру постінфарктного серця, що проявляється в зменшенні зони рубця, збільшенні кількості судин і відсотка збережених кардіоміоцитів. Доведено позитивний вплив інтраміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на функціональний резерв і метаболізм кардіоміоцитів завдяки паракринному ефекту і стимуляції процесів ангіогенезу, що підтверджувалося достовірним підвищенням рівня VEGF до $(132,74 \pm 19,87)$ і $(111,43 \pm 12,22)$ пг/мл, підвищенням концентрацій похідних оксиду азоту до $(0,96 \pm 0,05)$ і $(0,92 \pm 0,03)$ мкг/мл з одночасним зниженням концентрації ендотеліну-1 до нормальних значень.

2. На підставі експериментальних досліджень доведено, що при інфаркті міокарда відбувається накопичення ТБК-активних продуктів (з $(1,09 \pm 0,1)$ до $(2,81 \pm 0,8)$ мкмоль/л ($t=2,13$, $p<0,05$)) з компенсаторним підвищенням вмісту церулоплазміну (до (59 ± 4) мг/дл), що свідчить про зрив компенсаторних механізмів. Трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин

обмежує швидкість перекисного окислення ліпідів, знижує експресію антиоксидантних білків плазми, сприяє стимуляції факторів природних систем антиоксидантного захисту – зниженню концентрації ТБК-активних продуктів до норми і майже дворазовому підвищенню рівня церулоплазміну у порівнянні з тваринами з інфарктом міокарда ($p < 0,001$).

3. Експериментальні дослідження показали, що при інфаркті міокарда відбувається зменшення інтегрального показника співвідношення маси лівого шлуночка до маси тіла (LW/BW) до $(0,16 \pm 0,01)$ ($t=1,8$, $p < 0,05$), а інтраміокардіальне введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин сприяє його нормалізації. Трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку сприяє підвищенню фракцію викиду лівого шлуночка з $(55,3 \pm 3,4)$ до $(66,5 \pm 3,3)$ % ($t=2,5$, $p < 0,05$) і ударного об'єму з $(0,13 \pm 0,03)$ мл до $(0,18 \pm 0,02)$ мл ($t=1,9$, $p < 0,05$).

4. Внутрішньовенне введення аутологічних стовбурових клітин кісткового мозку пацієнтам з хронічною ішемічною хворобою серця і вираженою дисфункцією лівого шлуночка безпечно, добре переноситься хворими і не супроводжується ускладненнями; трансплантація ауто-мезенхімальних стовбурових клітин супроводжується стабілізацією показників антиоксидантної системи (підвищенням відновленого глутатіону з $(1106,8 \pm 566,8)$ ммоль/л до $(1175 \pm 477,7)$ ммоль/л і показників ліпідного обміну ($p < 0,05$), сприяє підвищенню виживаності, зниженню ступеня серцевої недостатності. В 3-місячний термін відмічено поліпшення скоротливої функції лівого шлуночка, яке проявляється в підвищенні фракції викиду з $(33,8 \pm 3,6)$ до $(42,8 \pm 4,8)$ % і зниженні кінцево діастолічного об'єму з $(244,1 \pm 24,3)$ до $(193,4 \pm 18,9)$ мл), а також зменшенні ангінальних симптомів, через 6 місяців відмічено зниження функціонального класу серцевої недостатності і дворазове зниження вмісту NTpro ~ BNP, $p < 0,001$).

5. Доведено, що точне електричне і механічне картування дозволяє суперселективно імплантувати стовбурові клітини, завдяки чому можливо досягти максимального позитивного ефекту клітинної терапії. Використання навігаційної системи NOGA XR і катетерів для діагностики зон гібернованого міокарда та ін'єкцій трансплантату є ефективним і безпечним та дозволяє уникнути життєзагрозливих ускладнень.

6. Розроблена методика трансендоміокардіальних ін'єкцій ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку при рефрактерній стенокардії за результатами електроанатомічного картування лівого шлуночка, яке відображує перфузію міокарда, показала покращення загального уніполярного вольтажа (UV) з $(7,3 \pm 1,1)$ мВ до $(8,9 \pm 1,8)$ мВ через 6 місяців і $(8,1 \pm 1,3)$ мВ через 12 місяців ($p=0,03$).

7. Встановлена позитивна динаміка показників внутрішньосерцевої гемодинаміки за даними трансторакальної ехокардіографії після внутрішньовенної і трансендоміокардіальної трансплантації ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку: підвищення фракції викиду лівого шлуночка відповідно з $(33,8 \pm 3,6)$ до $(42,8 \pm 4,8)$ % і $(41,3 \pm 3,2)$ до

(49,3±4,6) % в термін 6 місяців, зменшення кінцево діастолічного об'єму лівого шлуночка з (248,5±22,3) до (194,3±26,4) мл і з (244,1±24,3) до (193,4±18,9) мл через 3 місяці після процедури, а також підвищення толерантності до фізичних навантажень до (3,8±0,47) і (4,2±0,95) у.од. ($p<0,05$) через 6 місяців.

8. Найбільш ефективною є методика трансендоміокардіальної імплантації ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку, яка за даними електромеханічного картування сприяє достовірному зменшенню глибини і площі дефектів перфузії міокарда, сприяє стимуляції неоангіогенезу, що підтверджується підвищенням рівня катаболічної фракції тімідінфосфорілази з (246,51±34,54) до (385,7±32,8) і зниженням її анаболічної фракції.

9. У хворих на ішемічну хворобу серця з фракцією викиду лівого шлуночка ≤ 35 % в якості підготовки до виконання коронарного шунтування доцільно застосовувати внутрішньовенну (в терміни 3–4 місяці) або трансендоміокардіальну (в терміни 3–6 місяців) трансплантацію ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку.

10. Встановлено достовірне покращення функціонального класу стенокардії і функціонального класу хронічної серцевої недостатності (NYHA) у 20 % хворих ($p=0,003$) після внутрішньовенного введення ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку. Після трансендоміокардіальної імплантації ауто-мезенхімальних стовбурових клітин ці показники покращились відповідно у 26,7 і 47,6 % пацієнтів ($p=0,001$) через 3 і 6 місяців після виконання процедури.

11. Трансплантація ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку з використанням навігаційної системи є безпечною і ефективною процедурою, не супроводжується післяопераційними ускладненнями, сприяє підвищенню термінів виживаності до 35 (18–61) місяців у порівнянні з 12 (0,72–50) місяцями у групі медикаментозного лікування ($p=0,033$); зниженню летальності на етапі 36-місячного контролю до 13,3 % порівняно з 46,7 % в групі медикаментозного лікування. Для досягнення максимального ефекту лікування через 1 рік доцільно проводити повторну процедуру трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку.

12. Трансендоміокардіальна імплантація ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку покращує основні показники якості життя: фізичного функціонування (PF), інтенсивності болю (BP), повсякденної діяльності (RE) і соціального функціонування (SF), незалежно від вихідного ступеня вираженості ішемічної дисфункції.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Трансплантація аутологічних клітин кісткового мозку в лікуванні пацієнтів з ішемічною дисфункцією серця може бути використана в якості компонента комплексної терапії хворих на ішемічну хворобу серця незалежно від вихідної функції лівого шлуночка.

2. Показаннями до виконання клітинної терапії є: давність інфаркту міокарда більше 12 місяців; виражені клінічні симптоми серцевої недостатності; резистентність до оптимальної медикаментозної терапії і відсутність можливості виконання стандартної реваскуляризації.

3. Оптимальним методом клітинної трансплантації є ін'єкції аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку в зони гібернованого міокарда за допомогою навігаційної системи NOGA XR і катетерів для діагностики зон гібернованого міокарда.

4. Застосування методу трансендоміокардіальної трансплантації ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку при ішемічній дисфункції міокарда сприяє зниженню функціонального класу стенокардії і хронічної серцевої недостатності, покращенню якості життя хворих.

5. Трансплантація ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку може використовуватися у хворих з низькою скоротливою функцією лівого шлуночка на етапі підготовки до виконання реваскуляризації міокарду через 6 місяців у хворих на ішемічну хворобу серця.

6. З урахуванням динаміки досягнення максимального клініко-функціонального ефекту пацієнтам з вираженою дисфункцією міокарда після 1-го року імплантації ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку доцільно розглядання питання про виконання повторного курсу клітинної терапії.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Монографія:

1. Гринь В. К., Михайличенко В. Ю., Гнилорыбов А. М., Попандопуло А. Г., **Эстрин С. И.** Клеточная кардиомиопластика при экспериментальном инфаркте миокарда. Донецк: Издательство «Юго-восток», 2014. 248 с. *(Здобувач брав участь в розробці дизайну експерименту, брав участь в самих експериментах, провів аналіз результатів).*

Статті у наукових фахових виданнях України:

2. Гринь В. К., **Эстрин С. И.**, Кравченко Т. В., Денисова Е. М., Попандопуло А. Г., Михайличенко В. М., Филюк А. В., Вегуляр С. С., Акобиров Е. С. Первый опыт использования навигационной системы NOGA XR для электрического и механического картирования левого желудочка у больных с рефрактерной стенокардией. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. Серцево-судинна хірургія. 2009. Вип. 17. 118–121. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, провів аналіз результатів, підготував статтю до друку).*

3. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Печененко А. Р. Найближчі та віддалені результати інтракоронарного уведення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин при рефрактерній стенокардії. Буковинський медичний вісник. 2020. №4(96). С. 27–31. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним*

проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).

4. Гринь В. К., Михайличенко В. Ю., **Эстрин С. И.**, Кравченко Т. В. Первый клинический опыт эндокардиального введения мезенхимальных стволовых клеток при рефрактерной стенокардии. Міжвідомчий медичний журнал. Наука і практика. 2014. №2-3(3-4). С. 144–149. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, підготував статтю до друку).*

5. Гринь В. К., **Эстрин С. И.**, Кравченко Т. В. Применение аутологичных стромальных стволовых клеток для лечения рефрактерной стенокардии. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. Серцево-судинна хірургія. 2010. Вип. 18. С. 137–140. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, підготував статтю до друку).*

6. Гринь В. К., **Эстрин С. И.**, Кравченко Т. В. Биотехнологии в лечении ишемической болезни сердца. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. Серцево-судинна хірургія. 2011. Вип. 19. С. 79–82. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, провів аналіз результатів, підготував статтю до друку).*

7. Гринь В. К., **Эстрин С. И.**, Денисова О. М. Клітинні технології в лікуванні ішемічної хвороби серця. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. Серцево-судинна хірургія. 2012. Вип. 20. С. 115–119. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, підготував статтю до друку).*

8. Гринь В. К., **Эстрин С. И.**, Денисова Е. М. Аутологичные мезенхимальные стволовые клетки в лечении хронической сердечной недостаточности у пациентов с ишемической кардиомиопатией. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. Серцево-судинна хірургія. 2013. Вип. 21. С. 79–82. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

9. Эстрин С. И. Сравнительная оценка интракоронарного и внутривенного введения мезенхимальных стволовых клеток при рефрактерной стенокардии. Вісник серцево-судинної хірургії. 2014. Вип. 22. С. 410–412.

10. Гринь В. К., Попандопуло А. Г., **Эстрин С. И.**, Денисова Е. М., Сергиенко Н. В., Рябко А. А. Влияние клеточной трансплантации на течение хронической сердечной недостаточности у больных с ишемической болезнью сердца. Медицина сьогодні і завтра. 2011. №1-2(50-51). С. 52–57. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

11. Эстрин С. И. Использование навигационных систем CARTO и NOGA XR при выполнении клеточной кардиомиопластики. Вестник неотложной и восстановительной медицины. 2013. Т. 14. № 1. С. 127–131.

12. Эстрин С. И. Биохимические аспекты эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток при лечении инфаркта миокарда в

експерименте. Вестник неотложной и восстановительной медицины. 2013. Т. 14. №2. С. 189–192.

13. Эстрин С. И. Первый опыт интракоронарного введения мезенхимальных стволовых клеток при рефрактерной стенокардии. Таврический медико-биологический вестник. 2013. №3(63). С. 171–173.

14. **Эстрин С. И.**, Михайличенко В. Ю. Роль мезенхимальных стволовых клеток в лечении экспериментального инфаркта миокарда. Таврический медико-биологический вестник. 2013. №4(64). С. 151–154. *(Здобувач виконав експеримент, обробив отримані результати, підготував статтю до друку).*

15. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Печененко А. Р. Віддалені результати клітинної кардіоміопластики у хворих із рефрактерною стенокардією. Медицина сьогодні і завтра. 2020. №3(88). С. 47–57. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

16. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Ковальчук А. О. Вплив трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин на функціональну активність серця при експериментальному інфаркті міокарда. Український журнал серцево-судинної хірургії. 2021. №1(42). С. 28–37. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

17. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Печененко А. Р. Порівняльний аналіз функціональних результатів різних способів введення аутологічних стромальних клітин в лікуванні хворих на рефрактерну стенокардію. Експериментальна і клінічна медицина. 2020. №3(88). С. 30–43. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

18. Гринь В. К., Штутин А. А., Михайличенко В. Ю., Попандопуло А. Г., **Эстрин С. И.**, Денисова Е. М., Оксимец В. М., Кравченко Т. В., Климовицкий В. Г. Применение аутологических мезенхимальных стволовых клеток в кардиологии и травматологии. Журнал Національної академії медичних наук України. 2011. №17(1). С. 67–75. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, провів аналіз результатів, підготував статтю до друку).*

Статті у наукових фахових виданнях України,

включених до міжнародних наукометричних баз даних:

19. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Печененко А. Р. Аутологічна клітинна терапія та її роль при лікуванні рефрактерної стенокардії. Клінічна та експериментальна патологія. 2020. №4(74). С. 23–28. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

20. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Печененко А. Р. Визначення ефективності клітинної кардіоміопластики за допомогою навігаційної системи NOGA XR. Клінічна хірургія. 2020. №87(9-10). С. 27–34. *(Здобувачу належить*

ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).

21. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Ковальчук А. О. Безпосередні результати лікування хворих на рефрактерну стенокардію допомогою стовбурових клітин. Міжнародний медичний журнал. 2020. Т. 26. №4(104). С. 33–37. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

22. **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В., Ковальчук А. О., Акобиров Є. С. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на ефективність ангиогенезу, стан ссудинного тонуусу, інтенсивність перекисного окислення ліпідів і метаболічну активність кардіоміоцитів при експериментальному інфаркті міокарда. Міжнародний медичний журнал. 2021. Т. 27. №1(105). С. 35–42. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

23. **Estrin S.**, Kravchenko T., Pechenenko A. Morphological and morphometric changes on the background of cell cardiomyoplasty sn experimental myocardial infarction. Science Rise: Medical Science. 2020. Vol. 6(39). P. 23–31. *(Здобувачу належить ідея дослідження, ним проведено статистичний аналіз, узагальнення результатів, підготовку статті до друку).*

Тези наукових доповідей:

24. **Эстрин С. И.**, Михайличенко В. Ю. Изучение эффективности клеточной кардиомиопластики при инфаркте миокарда в эксперименте. Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики: Міжнародна науково-практична конференція, м. Одеса, 13–14 вересня 2013 року: тези доповіді. Одеса, 2013. С. 90–95. *(Здобувач виконав експеримент, обробив отримані результати, підготував статтю до друку).*

25. Гринь В. К., **Эстрин С. И.**, Попандопуло А. Г., Кравченко Т. В., Денисова Е. М., Сергиенко Н. В. Лечение рефрактерной стенокардии с использованием аутологичных стромальных стволовых клеток. Генетична і регенеративна медицина: проблеми та перспективи: Науково-практична конференція з міжнародною участю, м. Київ, 14–15 жовтня 2010 року: тези доповіді. Журнал Академії медичних наук України. 2010. Т. 16 (додаток). С. 43–44. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, підготував статтю до друку).*

26. Естрін С. І. Аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини та їх роль при лікуванні рефрактерної стенокардії. Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії: Міжнародна науково-практична конференція, м. Львів, 20–21 вересня 2013 року: тези доповіді. Львів, 2013. С. 85–90.

27. Эстрин С. И. Применение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в кардиологии – лечение тяжелых форм ИБС – рефрактерной стенокардии и ишемической кардиомиопатии. Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя: Міжнародна

науково-практична конференція, м. Київ, 27–28 вересня 2013 року: тези доповіді. Київ, 2013. С. 91–95.

28. **Естрін С. І.**, Михайліченко В. Ю. Аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини при рефрактерній стенокардії в клінічній практиці. Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення: Міжнародна науково-практична конференція, м. Дніпропетровськ, 4–5 жовтня 2013 року: тези доповіді. Дніпропетровськ, 2013. С. 46–52. *(Здобувач виконав експеримент, обробив отримані результати, підготував статтю до друку).*

29. Гринь В. К., **Естрін С. І.**, Михайліченко В. Ю. Клінічне застосування аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин при рефрактерній стенокардії. Актуальні питання клінічної кардіології: Науково-практична конференція, м. Донецьк, 23–24 травня 2013 року: тези доповіді. Донецьк, 2013. С. 24–28. *(Здобувач брав участь у наборі клінічного матеріалу, провів аналіз результатів, підготував статтю до друку).*

30. Эстрин С. И. Сравнительная эффективность внутривенного и интракоронарного введения мезенхимальных стволовых клеток при рефрактерной стенокардии. Актуальні питання внутрішньої медицини: Міжнародна науково-практична конференція, присвяченої 100-річчю від дня народження професора А. П. Пелешука, м. Київ, 26–27 вересня 2013 року: тези доповіді. Київ, 2013. С. 58.

31. Михайличенко В. Ю., **Эстрин С. И.** Патологические аспекты клеточной кардиомиопластики при инфаркте миокарда в эксперименте. Патологическая физиология: современное состояние, проблемы и перспективы: I Евразийский съезд патофизиологов, посвященный 80-летию кафедры патофизиологии КазНМУ имени С. Д. Асфендиярова, г. Алматы, 29–30 ноября 2013 года: тезисы доклада. Вестник КазНМУ. 2013. №5(1). С. 175–178. *(Здобувач виконав експеримент, обробив отримані результати, підготував статтю до друку).*

Патенти:

32. Гринь В. К., **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В. Патент на корисну модель №43994 Україна, А61 В 17/00. Спосіб лікування хворих на рефрактерну стенокардію; власник Гринь В. К., Естрін С. І., Кравченко Т. В. № у 2009 04250; заявлено 29.04.2009; опубліковано 10.09.2009; Бюл. 17. *(Здобувач провів патентний пошук, запропонував та впровадив спосіб).*

33. Возіанов О. Ф., Гринь В. К., **Естрін С. І.**, Кравченко Т. В. Патент на корисну модель №56597 Україна, А61 В 17/00 Спосіб лікування хворих на ішемічну хворобу серця; власник Возіанов О. Ф., Гринь В. К., Естрін С. І., Кравченко Т. В. № у 2010 05937; заявлено 17.05.2010; опубліковано 21.01.2011; Бюл. 2. *(Здобувач провів патентний пошук, запропонував та впровадив спосіб).*

АНОТАЦІЯ

Естрін С. І. Клітинна кардіоміопластика в комплексному лікуванні рефрактерної стенокардії (експериментально-клінічне дослідження). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук зі спеціальності 14.01.08 «Трансплантологія та штучні органи». – Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України, Київ, 2021.

Експериментальними дослідженнями доведено, що клітинна кардіоміопластика (незалежно від способу введення стовбурових клітин) покращує структуру постінфарктного серця. Доведено позитивний вплив інтраміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин на функціональний резерв і метаболізм кардіоміоцитів завдяки паракринному ефекту і стимуляції процесів ангіогенезу, що підтверджувалося достовірним підвищенням рівня VEGF до $(132,74 \pm 19,87)$ і $(111,43 \pm 12,22)$ пг/мл, підвищенням концентрацій похідних оксиду азоту до $(0,96 \pm 0,05)$ і $(0,92 \pm 0,03)$ мкг/мл з одночасним зниженням концентрації ендотеліну-1 до нормальних значень. Трансплантація аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин сприяла підвищенню фракції викиду лівого шлуночка з $(55,3 \pm 3,4)$ % до $(66,5 \pm 3,3)$ ($t=2,5$, $p<0,05$) і ударного об'єму з $(0,13 \pm 0,03)$ до $(0,18 \pm 0,02)$ мл ($t=1,9$, $p<0,05$). Якісна реакція серця на стрес-імітуюче навантаження після внутрішньовенного і ендоміокардіального введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку збільшувалась відповідно на +38 і 39, що обумовлено хоумінгом стовбурових клітин у бік ішемії з їх диференціюванням в клітини ендотелію судин і паракринним ефектом.

Проаналізовано результати лікування 156 хворих на рефрактерну стенокардію. Доведено, що внутрішньовенне введення аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин пацієнтам з хронічною ішемічною хворобою серця і вираженою дисфункцією лівого шлуночка безпечно, добре переноситься хворими і не супроводжується ускладненнями, сприяє підвищенню виживаності. Виявлено, що трансплантація ауто-мезенхімальних стовбурових клітин супроводжується стабілізацією показників антиоксидантної системи, зниженням ступеня серцевої недостатності (через 6 місяців відмічено зниження функціонального класу серцевої недостатності і дворазове зниження вмісту NTpro-BNP, $p<0,001$), зменшенням функціонального класу стенокардії в 3-місячний термін ($p<0,005$ %), поліпшенням скоротливої функції лівого шлуночка через 3 місяці, а також зниженням ангінальних симптомів. Розроблена методика трансендоміокардіальних ін'єкцій ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку при рефрактерній стенокардії показала підвищення загального уніполярного вольтажа (UV) з $(7,3 \pm 1,1)$ до $(8,9 \pm 1,8)$ мВ через 6 місяців і $(8,1 \pm 1,3)$ мВ через 12 місяців ($p=0,03$). Встановлена позитивна динаміка показників трансторакальної ехокардіографії після внутрішньовенної і трансендоміокардіальної трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку у хворих на ішемічну хворобу серця з

фракцією викиду лівого шлуночка $\leq 35\%$ в якості підготовки до виконання аорто-вінцевого шунтування доцільно застосовувати внутрішньовенну (в терміни 3–4 місяці) або трансендоміокардіальну (в терміни 3–6 місяців) трансплантацію ауто-мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку.

Трансплантація ауто-мезенхімальних стовбурових клітин в зоні гібернованого міокарда з використанням навігаційної системи Noga XR є безпечною і ефективною процедурою, не супроводжується післяопераційними ускладненнями, сприяє підвищенню термінів виживаності до 35 (18–61) місяців, зниженню летальності на етапі 36-місячного контролю з 46,7 до 13,3 %. Для досягнення максимального ефекту лікування через 1 рік доцільно проводити повторну процедуру трансплантації.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, рефрактерна стенокардія, хронічна серцева недостатність, аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини, якість життя, експеримент.

АННОТАЦІЯ

Эстрин С. И. Клеточная кардиомиопластика в комплексном лечении рефрактерной стенокардии (экспериментально-клиническое исследование). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.08 «Трансплантология и искусственные органы». – Государственное учреждение «Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А. А. Шалимова» НАМН Украины, Киев, 2021.

Экспериментальными исследованиями доказано, что клеточная кардиомиопластика (независимо от способа введения стволовых клеток) улучшает структуру постинфарктного сердца. Доказано положительное влияние интрамиокардиального введения ауто-мезенхимальных стволовых клеток на функциональный резерв и метаболизм кардиомиоцитов благодаря паракринному эффекту и стимуляции процессов ангиогенеза, что подтверждалось достоверным повышением уровня VEGF до $(132,74 \pm 19,87)$ и $(111,43 \pm 12,22)$ пг/мл, повышением концентраций производных оксида азота до $(0,96 \pm 0,05)$ и $(0,92 \pm 0,03)$ мкг/мл с одновременным снижением концентрации эндотелина-1 до нормальных значений. Трансплантация ауто-мезенхимальных стволовых клеток способствует повышению фракции выброса левого желудочка с $(55,3 \pm 3,4)\%$ до $(66,5 \pm 3,3)$ ($t=2,5$, $p<0,05$) и УО с $(0,13 \pm 0,03)$ мл до $(0,18 \pm 0,02)$ мл ($t=1,9$, $p<0,05$). Качественная реакция сердца на стресс-имитирующие нагрузки после внутривенного и трансэндомиокардиального введения ауто-мезенхимальных стволовых клеток костного мозга увеличивалось соответственно на +38 и 39, что обусловлено хоумингом стволовых клеток в сторону ишемии с их дифференцировкой в клетки эндотелия сосудов и паракринным эффектом. Таким образом клеточная кардиомиопластика при любом способе введения клеточного трансплантата позитивно влияла на морфологический субстрат сердца в виде уменьшения размеров рубца при постинфарктном ремоделировании, увеличения количества

вновьобразованных сосудов и увеличения процента сохраненных кардиомиоцитов. Это происходило за счет хоуминга мезенхимальных стволовых клеток в зону ишемии и совокупности двух механизмов – непосредственного дифференцирования в клетки эндотелия сосудов сердца и паракринного эффекта.

Проанализированы результаты лечения 156 больных рефрактерной стенокардией. Заданием исследования была оптимизация методики клеточной кардиомиопластики у пациентов с рефрактерной стенокардией, соответственно для этого нами было сформировано 5 подгрупп (по 15 особ в каждой). 1-я подгруппа – сравнения, включала пациентов, которые получали только медикаментозную терапию. 2-я подгруппа – плацебо-контроль, в которой больным выполняли «пустые» трансэндокардиальные инъекции в миокард при помощи электрофизиологической навигационной системы NOGA XR. В 3-й подгруппе выполняли системное внутривенное введение ауто-мезенхимальных стволовых клеток в дозе 50 млн. В 4-й подгруппе пациентам интракоронарно вводили аутологичные мезенхимальные стволовые клетки в дозе 50 млн. в комприментированные коронарные артерии. 5-я подгруппа – пациенты с трансэндокардиальным введением аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в дозе 50 млн. Катетерное электромеханическое картирование левого желудочка выполняли с использованием навигационной системы нефлюороскопического контроля Noga XR (Biosense Webster, США). Выполняли электроанатомическую объемную реконструкцию левого желудочка с реконструкцией его геометрии и последовательности электрической активации. После завершения процесса картирования левого желудочка катетер для картирования заменяли на катетер Myostar (Biosense Webster, США), предназначенный для трансэндокардиального введения активных субстанций. Выполняли инъекции аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (8–10 инъекций) в миокард на глубину, которая равнялась половине толщины стенки, определенной при помощи трансторакальной эхокардиограммы наконуне. Объем каждой инъекции составлял 0,2 мл.

Доказано, что введение ауто-мезенхимальных стволовых клеток костного мозга пациентам с хронической ишемической болезнью сердца и выраженной дисфункцией левого желудочка было безопасным, хорошо переносилось больными и не сопровождалось осложнениями, способствовало повышению выживаемости. Трансплантация ауто-мезенхимальных стволовых клеток сопровождалась стабилизацией показателей антиоксидантной системы, снижением степени хронической сердечной недостаточности (через 6 месяцев отмечено снижение функционального класса сердечной недостаточности и двукратное снижение содержания NTpro-BNP, $p < 0,001$), уменьшением функционального класса стенокардии в 3-месячный срок ($p < 0,005$ %), улучшением сократительной функции левого желудочка через 3 месяца, а также снижением ангиальных симптомов. Разработанная методика трансэндомиокардиальных инъекций ауто-мезенхимальных стволовых клеток

костного мозга при рефрактерной стенокардии показала повышение общего униполярного вольтажа (UV) с $(7,3 \pm 1,1)$ мВ до $(8,9 \pm 1,8)$ мВ через 6 месяцев, $(8,1 \pm 1,3)$ мВ через 12 месяцев ($p=0,03$). Установлена положительная динамика показателей трансторакальной эхокардиографии после внутривенной и трансендомикардиальной трансплантации ауто-мезенхимальных стволовых клеток КМ. У пациентов с ишемической болезнью сердца и фракция вытока левого желудочка ≤ 35 % в качестве подготовки к выполнению АКШ целесообразно применять внутривенную (в сроки 3–4 месяца) или трансендомикардиальную (в сроки 3–6 месяцев) трансплантацию ауто-мезенхимальных стволовых клеток костного мозга. Введение трансплантата с использованием навигационной системы Noga XR является безопасной и эффективной процедурой, не сопровождается послеоперационными осложнениями, способствует повышению сроков выживаемости до 35 (18–61) месяцев, снижению летальности на этапе 36-месячного контроля с 46,7 до 13,3 %. Таким образом, трансэндомикардиальное введение ауто-мезенхимальных стволовых клеток костного мозга с использованием навигационной системы является безопасной клинической процедурой. Через 3–6 месяцев после введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток увеличивалось качество жизни пациентов, снижалась потребность в кардиотропных препаратах, увеличивалась фракция выброса левого желудочка, улучшалась толерантность к физическим нагрузкам. За данными 6-минутного теста ходьбы после трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток на этапах контроля 3–6–12 месяцев расстояние которое проходили больные, достоверно увеличивалось. В первые 12 месяцев прогресс сердечной недостаточности не наблюдался ни у одного из пациентов, функциональный класс стенокардии напряжения (CCS) и ХСН (NYHA) статистически значимо улучшался у большинства пациентов. Соответственно уменьшалось количество больных, которые принимали сублингвальные нитраты. На протяжении 12-месячного наблюдения показатели фракции выброса левого желудочка, конечнодиастолического объема левого желудочка, конечносистолического объема левого желудочка, ударного объема во время эхокардиографии, оставались практически неизменными. По данным электромеханического картирования отмечали признаки увеличения объема «живого» миокарда, что может быть признаком улучшения перфузии миокарда в зонах гибернированного миокарда левого желудочка.

Позитивный клинический эффект удерживается на протяжении 12–24 месяцев с постепенным его уменьшением до 36 месяцев. Однако возможно проведение повторной процедуры для обновления эффекта клеточной кардиомиопластики. В ряде случаев трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток у больных с рефрактерной стенокардией использовалась как первый этап лечения ишемической болезни сердца для повышения сократительной способности левого желудочка. В последующем (через 6 месяцев) больным выполняли шунтирующие операции на коронарных

артериях. Для достижения максимального эффекта лечения через 1 год целесообразно выполнять повторную процедуру трансплантации.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, рефрактерная стенокардия, хроническая сердечная недостаточность, аутологичные мезенхимальные стволовые клетки, качество жизни, эксперимент.

ANNOTATION

Estrin S. I. Cellular cardiomyoplasty in the complex treatment of refractory angina pectoris (experimental and clinical study). – As a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences in the specialty 14.01.08 «Transplantology and artificial organs». – State Institution «O. O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology» of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev, 2021.

Experimental studies have shown that cellular cardiomyoplasty (regardless of the method of administration of stem cells) improves the structure of postinfarction heart. The positive effect of injections into the myocardium and intramyocardial administration of auto-MSCs on the functional reserve and metabolism of cardiomyocytes due to the paracrine effect and stimulation of angiogenesis processes has been proven, which was confirmed by a significant increase in the VEGF level to $(132,74 \pm 19,87)$ and $(111,43 \pm 12,22)$ pg/ml, an increase in the concentration of nitric oxide derivatives to $(0,96 \pm 0,05)$ and $(0,92 \pm 0,03)$ $\mu\text{g/ml}$ with a simultaneous decrease in the concentration of endothelin-1 to normal values. Mesenchymal stem cell transplantation increases LVEF from $(55,3 \pm 3,4)$ % to $(66,5 \pm 3,3)$ ($t=2,5$, $p<0,05$) and SV c $(0,13 \pm 0,03)$ ml to $(0,18 \pm 0,02)$ ml ($t=1,9$, $p<0,05$). Experimental studies have shown that the qualitative reaction of the heart to stress-mimicking loads after intravenous and endomyocardial administration of autologous mesenchymal bone marrow stem cells increased by +38 and 39, respectively, which is due to SC homing towards ischemia with their differentiation into vascular endothelial cells and the paracrine effect.

The results of treatment of 156 patients with refractory angina pectoris were analyzed. It was proved that the administration of autologous stem cells of bone marrow to patients with chronic coronary artery disease and severe left ventricular dysfunction is safe, well tolerated by patients and is not accompanied by complications; transplantation of autologous mesenchymal stem cells is accompanied by stabilization of the antioxidant system indicators, contributes to an increase in survival, a decrease in the degree of heart failure (after 6 months, a decrease in HF symptoms and a twofold decrease in NTpro~BNP content, $p<0,001$), a decrease in angina FC in 3 months ($p<0,005$ %), improvement of LV contractile function after 3 months, as well as reduction of anginal symptoms. The developed technique of transendomyocardial injections of autologous mesenchymal bone marrow stem cells in refractory angina pectoris showed an improvement in the total unipolar voltage (UV) from $(7,3 \pm 1,1)$ mV to $(8,9 \pm 1,8)$ mV after 6 months $(8,1 \pm 1,3)$ mV after 12 months ($p=0,03$) with. The positive dynamics of Echo parameters after intravenous and transendomyocardial transplantation of autologous BM MSCs was established. In

CHD patients with LVEF $\leq 35\%$, as a preparation for CABG, it is advisable to use intravenous (within 3–4 months) or transendomyocardial (within 3-6 months) transplantation of autologous mesenchymal bone marrow stem cells. Transplantation of autologous mesenchymal stem cells using a navigation system Noga XP is a safe and effective procedure, is not accompanied by postoperative complications, contributes to an increase in the survival time to 35 (18–61) months, a decrease in mortality at the stage of 36-month control from 46,7 to 13,3 %, in order to achieve the maximum effect of treatment after 1 year, it is advisable to carry out a repeated transplantation of autologous mesenchymal bone marrow stem cells.

Key words: ischemic heart disease, refractory angina pectoris, chronic heart failure, autologous mesenchymal stem cells, quality of life, experiment.